

CuO纳米颗粒对拟南芥叶片生长及生理特性的影响

徐立娜, 王震宇*, 赵建

中国海洋大学环境科学与工程学院, 山东青岛266100

摘要: 本文通过营养液培养实验, 研究CuO纳米颗粒(nanoparticles, NPs)悬浮液对拟南芥叶片生长、叶绿体活性氧产生和保护酶活性的影响。结果表明, CuO NPs悬浮液处理96 h后, 拟南芥叶片生长受到显著抑制, 叶绿体中过氧化氢(H₂O₂)、羟基自由基(OH·)和超氧阴离子(O₂⁻)含量均随着NPs处理浓度的增加和时间的延长而逐渐上升; 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)及抗坏血酸过氧化物酶(APX)的活性和丙二醛(MDA)含量增加。这表明CuO NPs能激发植物细胞的防御反应, 这种防御反应与CuO NPs存在时间-剂量关系。

关键词: CuO纳米颗粒; 叶片生长; 叶绿体; 氧化胁迫

Effects of CuO Nanoparticles on Growth and Physiological Characteristics in Leaf of *Arabidopsis thaliana*

XU Li-Na, WANG Zhen-Yu*, ZHAO Jian

College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao, Shandong 266100, China

Abstract: The purpose of the present study was to estimate the influence of CuO nanoparticles (NPs) suspension on the leaf growth of *Arabidopsis thaliana*, reactive oxygen generation in chloroplast, and antioxidant enzyme activity under hydroponic conditions. The results showed that the leaf growth was significantly inhibited exposure to CuO NPs suspension for 96 h. The contents of H₂O₂, OH· and O₂⁻ increased gradually with the increasing of the time and the concentration of CuO NPs suspension, and the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) and malonaldehyde (MDA) content increased treated with CuO NPs. It was concluded that CuO NPs could excite the defensive reactions of plant cell, which had the time- and concentration-dependent of CuO NPs exposure.

Key words: CuO nanoparticles; leaf growth; chloroplast; oxidative stress

随着纳米科技的飞速发展, 纳米材料已被广泛应用于电子、生物医药、催化和材料等各个领域。这些纳米产品在生产、运输和使用过程中, 其产生的人工纳米颗粒(nanoparticles, NPs)难免会通过各种途径进入到大气、水体和土壤中, 而NPs本身所具有的独特的电学性能、化学性能、光学性能和力学性能等会给生态环境带来潜在的风险(Sánchez等2011; 杨玉芬和陈清如2002)。目前, 在生态环境保护领域, 人工合成NPs已经被认为是一种潜在的新型污染物, 越来越多的研究开始关注NPs的生态毒性效应。至今已有大量文献研究表明, NPs对无脊椎动物(Bouwmeester等2011)、细菌(Liu等2011)、藻类(Yang等2010)、鱼类(Zhao等2011)和高等植物(Zhou等2011; Asli和Neumann 2009)均能产生毒性效应。

同其他NPs一样, 由于材料、化学和生物科学等领域对CuO NPs的应用, 环境中已存在浓度较低

的CuO NPs。然而, 一旦被生物体吸收后, CuO NPs就会积累在生物体中, 最终产生显著的毒性效应(Wang等2012b)。植物作为生态系统中的初级生产者, 对食物链的传递及整个生态系统的稳定起着非常重要的作用。已有报道研究NPs在植物体的吸收和转运(Wang等2013), 对植物种子萌发(Lin等2007)、幼苗生长(Song等2013)的影响。叶绿体作为绿色植物的“养料制造工厂”和“能量转换站”, 对植物生长起到至关重要的作用, 同时叶绿体的光合电子传递链也是植物体产生氧化胁迫的主要位点。而目前对NPs影响植物叶绿体的特点及其作用机制了解不多。本文探究CuO NPs处理对拟南芥叶片生长及叶绿体抗氧化系统的影响, 拟

收稿 2015-03-19 修定 2015-05-25

资助 国家自然科学基金(41403086、41325013和41120134004)。

* 通讯作者(E-mail: wang0628@ouc.edu.cn; Tel: 0532-66782092)。

揭示拟南芥对CuO NPs胁迫的生理响应机制,为纳米材料安全、科学、有效的利用以及生态安全评价提供重要的理论依据。

材料与方法

1 实验材料

拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)种子(Col-0)由河北农业大学惠赠。

CuO (nanoparticles, NPs, 10 nm)购于北京纳辰科技发展有限责任公司,纯度为99.9%。为比较纳米级颗粒物与大颗粒物的生态效应的差别,实验设置微米级CuO颗粒(bulk particles, BPs, 1.5 μm)进行粒径效应比较。由于CuO NPs悬浮液会释放 Cu^{2+} ,而高浓度的 Cu^{2+} 也会对生物体存在一定的毒性效应,因此,选用 CuSO_4 优级纯试剂配置成溶液,作为离子效应对比,以明确CuO NPs对植物的生态效应来源于NPs本身还是NPs所释放的离子。

2 材料表征和离子释放

称取0.05 g的NPs及BPs颗粒于三角瓶中,加入100 mL去离子水,超声(100 W, 40 kHz) 30 min,制成悬浮液,用镍网蘸取少量分散好的CuO NPs和CuO BPs悬浮液自然风干,用投射电镜(TEM, JEM-2100, JEOL, Japan)观察CuO颗粒的形态及粒径。

将50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的CuO NPs悬浮液静置0、24、48、96、120、144和168 h后,将CuO NPs悬浮液高速离心30 min (10 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$)后,用0.22 μm 混合纤维膜过滤,滤液用石墨炉原子吸收测定滤液中释放的铜离子含量。

3 实验处理

选取籽粒饱满、大小均匀的拟南芥种子于8% NaClO (95%乙醇配制)中浸泡5 min后,用无水乙醇反复清洗至无白色沉淀。将消毒后的种子置于超净台上吹干后,直接播种于1/2MS培养基中,用封口膜密封,竖直立于光照培养箱中培养(光照14 h/黑暗10 h,光照强度约为75 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,温度24 $^{\circ}\text{C}$ /22 $^{\circ}\text{C}$)。待长至4片真叶且完全展开时,将发芽幼苗移至1/4双子叶营养液中缓苗,完全营养液的组成为: K_2SO_4 0.75 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 2.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 KCl 0.1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 KH_2PO_4 0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.65 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 H_3BO_3 1.0 $\times 10^{-3}$ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{MnSO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ 1.0 $\times 10^{-3}$ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、

$\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0 $\times 10^{-3}$ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1 $\times 10^{-4}$ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ 5 $\times 10^{-6}$ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 Fe-EDTA 0.1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。缓苗3 d后,选取生长一致的幼苗移至去离子水中,加入不同处理[20和50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ CuO NPs (20 NPs、50 NPs)、0.15 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu^{2+} (0.15 Cu^{2+})、50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ CuO BPs (50 BPs)],正常生长的植物为对照。随机排列,重复3次。培养温度为23~25 $^{\circ}\text{C}$ /18~20 $^{\circ}\text{C}$ (白天/夜晚),相对湿度为60%~70%,每天光照12 h,光照强度200 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,用曝气泵持续曝气。处理0、12、24、48和96 h时分别取样,测定各指标。

4 测定指标及方法

叶片鲜重、干重采用称重法,每个处理96 h选取20株植物叶片,用十万分之一电子天平(Mettler Toledo, 上海)称其鲜重和干重,计算叶片含水量。叶面积用根系扫描仪(EPSON 1000X, USA)进行分析。根据Lambert-Beer定律,利用对应波长下的吸光系数计算叶绿素a、b和类胡萝卜素的含量。叶绿体的提取采用差速离心法,选取1 g的植物鲜叶,匀浆后过滤,滤液在1 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下离心4 min,弃去沉淀,上清液在3 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下离心3 min,最终弃去上清液,所得沉淀即为叶绿体。过氧化氢(H_2O_2)与钼酸相互作用生成一种黄色的络合物,在405 nm波长下测定其生成量即可计算 H_2O_2 的量。羟自由基($\text{OH}\cdot$)的测定利用芬顿(Fenton)反应,用Griess试剂显色生成的红色物质,其颜色深浅与 $\text{OH}\cdot$ 量成正比。超氧阴离子自由基(O_2^-)的测定模拟机体中黄嘌呤与黄嘌呤氧化酶反应系统,产生 O_2^- ,加入电子传递物质及Gress氏显色剂进行测定。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的测定采用氮蓝四唑(nitrobluetetrazolium, NBT)光化还原法。过氧化物酶(peroxidase, POD)的测定采用愈创木酚比色法。过氧化氢酶(catalase, CAT)的测定采用高锰酸钾滴定法。抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)的测定以抗坏血酸的氧化量来表示。丙二醛(malondialdehyde, MDA)的测定采用硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid, TBA)法。

5 统计分析

实验数据统计分析采用SPSS 12.0软件,用ANOVA (analysis of variance, LSD检验法)进行方差分析。

实验结果

1 CuO NPs和CuO BPs表征

对 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ CuO NPs和CuO BPs悬浮液进行透射电镜观察发现, CuO NPs呈椭圆形或圆形, 在

去离子水中会发生团聚, 粒径主要分散在 $20\sim 40 \text{ nm}$ 之间(图1-A), 大于商家提供的数据(10 nm)。

CuO BPs呈现片状, 粒径大小与商家提供的 $1.5 \mu\text{m}$ 基本相符(图1-B)。

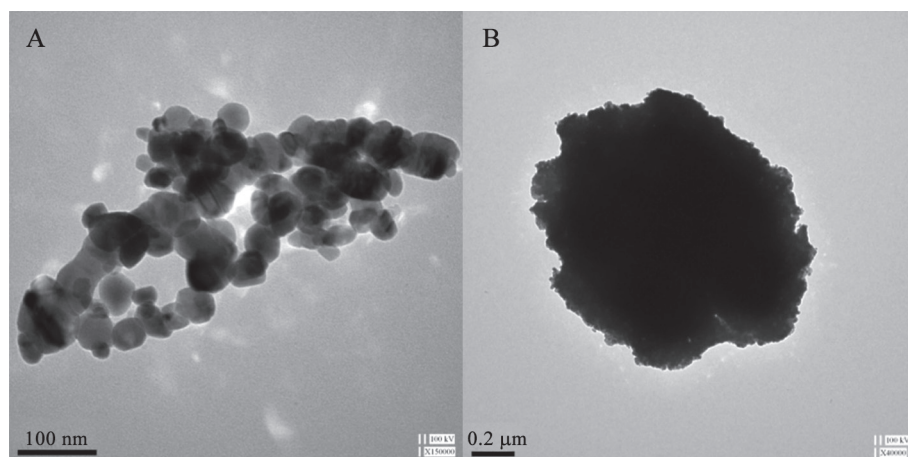


图1 CuO NPs和CuO BPs透射电镜观察图

Fig.1 TEM micrographs of CuO NPs and CuO BPs

A: CuO NPs; B: CuO BPs。

CuO NPs暴露144 h后, 铜离子浓度约为 $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 释放已基本达到平衡(图2)。为了更好的明确 Cu^{2+} 的效应, 本文设置的 Cu^{2+} 浓度为 $0.15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 高于NPs释放的 Cu^{2+} 的平衡浓度, 符合现实要求。

2 CuONPs对拟南芥叶片生长的影响

随着CuO NPs浓度的增加, 拟南芥叶片鲜重、

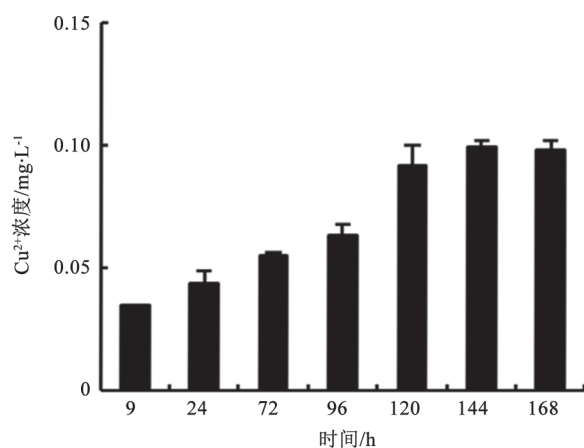


图2 CuO NPs释放铜离子浓度

Fig.2 Concentration of Cu^{2+} released from CuO NPs

干重、含水量、叶面积和叶绿素a/b值降低, 胡萝卜素/叶绿素值虽没有明显变化, 但与对照相比显著性增高(表1)。然而, Cu^{2+} 处理下, 拟南芥叶片鲜重、干重、叶片含水量和胡萝卜素/叶绿素值与对照相比无显著性变化, 叶面积和叶绿素a/b值显著低于对照, 但与 $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ CuO NPs相比无显著变化。CuO BPs处理对拟南芥叶片生长各指标没有显著性影响。

3 CuO NPs对拟南芥叶绿体活性氧的影响

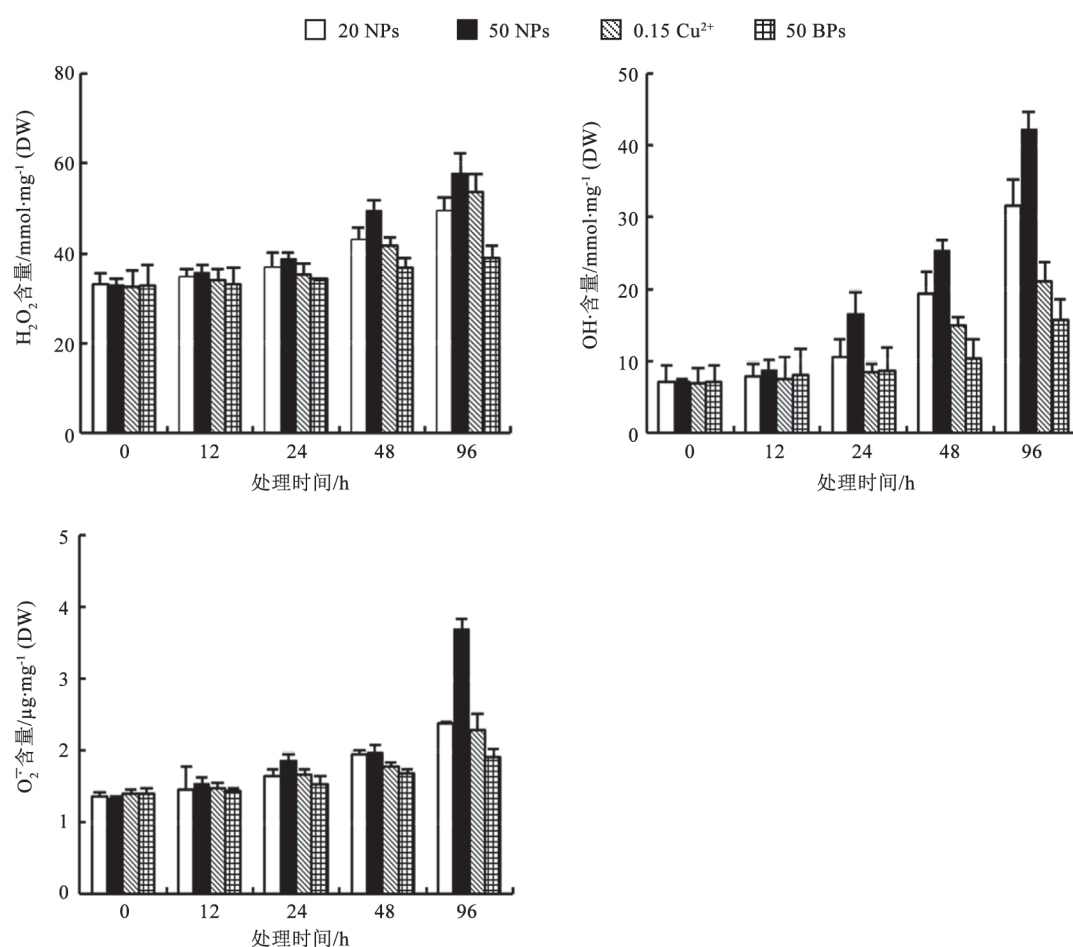
从图3来看, 拟南芥叶绿体内 H_2O_2 含量随着CuO NPs处理时间的延长而逐渐增高。 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ CuO NPs处理96 h时, H_2O_2 的含量是未处理的1.76倍, 差异显著($P<0.05$)。OH·含量变化趋势与 H_2O_2 的大致相同, CuO NPs处理的OH·含量升高, 并明显高于 CuSO_4 和CuO BPs处理。 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ CuO NPs处理96 h的OH·含量最高, 是未处理的5.82倍, 是 Cu^{2+} 处理96 h的2.0倍。 O_2^- 含量随CuO NPs处理时间和浓度的增加而逐渐增加, $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ CuO NPs处理96 h的 O_2^- 含量要显著高于其他处理96 h。 CuSO_4 处理和CuO BPs处理对拟南芥叶绿体中氧自由基影响不明显(图3)。

表1 CuO NPs对拟南芥叶片生长的影响

Table 1 Influences of CuO NPs on the leaf growth of *Arabidopsis*

处理	鲜重/mg	干重/mg	叶片含水量/g·g ⁻¹ (FW)	叶面积/cm ²	叶绿素a/b	胡萝卜素/叶绿素
对照	28.68±0.73 ^a	2.17±0.06 ^a	0.92±0.01 ^a	4.36±0.06 ^a	3.46±0.26 ^a	0.15±0.02 ^a
20 mg·L ⁻¹ CuO NPs	22.13±1.13 ^b	1.93±0.01 ^a	0.91±0.02 ^a	3.14±0.09 ^b	3.07±0.19 ^b	0.18±0.01 ^b
50 mg·L ⁻¹ CuO NPs	15.75±1.14 ^b	1.64±0.02 ^b	0.89±0.01 ^b	2.19±0.11 ^c	2.68±0.52 ^c	0.18±0.02 ^b
0.15 mg·L ⁻¹ Cu ²⁺	25.57±1.01 ^a	2.15±0.02 ^a	0.92±0.03 ^a	3.39±0.14 ^b	3.10±0.31 ^b	0.17±0.01 ^{ab}
50 mg·L ⁻¹ CuO BPs	26.41±0.55 ^a	2.07±0.03 ^a	0.92±0.02 ^a	4.39±0.14 ^a	3.46±0.44 ^a	0.16±0.03 ^a

表中数据为平均值±标准差, 同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

图3 CuO NPs处理对拟南芥叶片叶绿体中H₂O₂、OH·和O₂⁻含量的影响Fig.3 Influences of CuO NPs on H₂O₂, OH· and O₂⁻ contents in leaf chloroplast of *Arabidopsis*

4 CuO NPs对拟南芥叶绿体抗氧化酶的影响

图4显示, 随着50 mg·L⁻¹ CuO NPs处理时间的延长, 叶绿体中的SOD活性出现先增强后减弱的趋势。处理48 h时, SOD活性达到最大值, 分别是处理0、12、24和96 h的1.75、1.62、1.34和1.12倍; 处理96 h的SOD活性则有显著性降低。CuSO₄处理的SOD活性增加量要低于NPs处理下SOD的活性。

POD活性随着CuO NPs处理时间的延长而逐渐增高, 且CuO NPs浓度越高, POD活性越强。处理96 h, 50 mg·L⁻¹ CuO NPs处理的POD活性分别是20 mg·L⁻¹ CuO NPs、Cu²⁺和CuO BPs处理的1.34、1.82和2.22倍。

CuO NPs处理下拟南芥叶绿体中CAT活性在24 h内逐渐升高。处理24 h时, CAT活性与未处理相

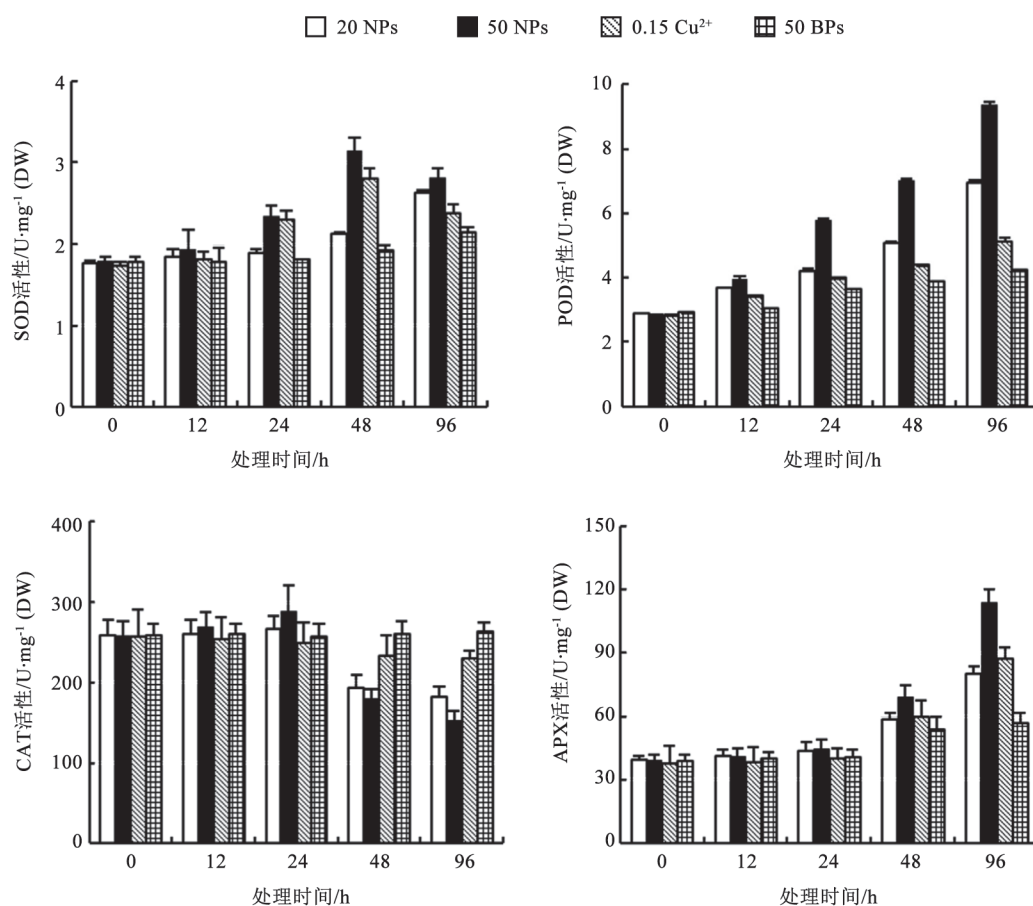


图4 CuO NPs处理对拟南芥叶片叶绿体中SOD、POD、CAT和APX活性的影响
Fig.4 Influences of CuO NPs on SOD, POD, CAT and APX activities in leaf chloroplast of *Arabidopsis*

比,增加了12%;随后CAT活性开始降低;处理96 h, CAT活性达到最低值。

CuO NPs和Cu²⁺处理下,APX活性均表现出随着处理时间的延长而逐渐增加。其中,以50 mg·L⁻¹ CuO NPs处理的APX活性增加最明显。50 mg·L⁻¹ CuO NPs持续处理96 h时,APX活性达到最高,是未处理的2.9倍,差异显著。CuO BPs处理对拟南芥抗氧化系统没有明显的影响。

5 CuO NPs对丙二醛含量的影响

CuO NPs和CuSO₄处理的MDA含量均随处理时间的延长而逐渐升高(图5)。NPs浓度越高,MDA含量越高。50 mg·L⁻¹ CuO NPs处理96 h的MDA含量最高,是未处理的1.37倍。

6 CuO NPs处理下拟南芥各指标的相关性分析

选取CuO NPs胁迫处理最长时间(96 h),拟南芥叶面积与各生理生化指标进行相关性分析。结果(表2)发现,CuO NPs处理下,叶面积与叶片含水

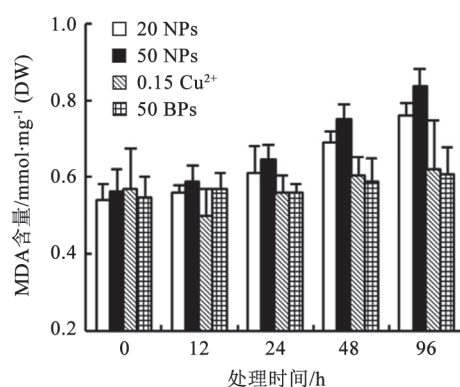


图5 CuO NPs处理对拟南芥叶绿体中MDA含量的影响
Fig.5 Influences of CuO NPs on MDA content in leaf chloroplast of *Arabidopsis*

量和叶绿素a/b呈显著性正相关($P < 0.05$);与H₂O₂含量、SOD活性、POD活性和MDA含量呈显著性负相关;与APX活性呈极显著负相关($P < 0.01$);与其他指标(OH·含量、O₂⁻含量、CAT活性和类胡萝卜

表2 叶面积与各生理生化指标之间的相关性分析

Table 2 Correlation analysis between leaf area and physiological indexes

	叶面积	叶片含水量	叶绿素a/b	类胡萝卜素/叶绿素	H ₂ O ₂ 含量	OH·含量
叶面积	1.0	0.798*	0.794*	-0.481	-0.772*	-0.359
	O ₂ ⁻ 含量	SOD活性	POD活性	CAT活性	APX活性	MDA含量
叶面积	-0.605	-0.758*	-0.739*	-0.422	-0.882**	-0.722*

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$ 。

素/叶绿素)呈负相关,但相关程度不显著。

讨 论

随着CuO NPs浓度的增加,拟南芥叶片生长受到明显的抑制。这与Lee等(2010)报道的ZnO NPs、SiO NPs和Fe₃O₄ NPs抑制拟南芥叶片生长的结果一致。CuO NPs处理导致拟南芥叶绿体a/b值降低,说明类囊体垛叠的程度降低,类囊体膜的稳定性变差,光能在光系统I和光系统II之间的分配受到影响,光合作用降低(Saison等2010)。Shi等(2011)研究CuO NPs对浮萍的毒性效应中也发现,1.0 mg·L⁻¹ CuO NPs暴露能够导致浮萍叶绿素含量显著性降低,光合作用受影响。类胡萝卜素除了在光合作用中具有一定的功能外,它也是一种内源的抗氧化剂,在叶绿体细胞中还可以吸收剩余的能量,淬灭活性氧,从而防止膜脂的过氧化(Zhang等2011; 张中伟等2008)。CuO NPs处理48 h,类胡萝卜素/叶绿素值达到最高,之后逐渐降低,说明拟南芥不能耐受CuO NPs长时间的胁迫。

NPs的表面活性较强,它们可以在吸收能量或者干扰电子传递链时产生活性氧(Dimkpa等2012)。氧化胁迫是纳米颗粒毒性效应的致毒机制之一。王震宇等(2010a)的研究发现TiO₂ NPs能够显著增强玉米幼苗抗氧化酶系统的活性。对于植物来说,叶绿体是光合作用的主要场所,也是产生活性氧的主要部位,在光合电子传递过程中,一旦发生电子泄漏,就会产生H₂O₂、OH·和O₂⁻的积累(陈花等2008; Pisciotta等2011)。CuO NPs处理下,3种氧自由基的积累量随着处理时间的延长而逐渐增高,导致叶绿体中产生氧化胁迫。此时,叶绿体中的防御机制启动,SOD作为清除O₂⁻自由基的专性抗氧化酶,当细胞中O₂⁻含量增加时,会激发SOD的活性,增加SOD合成的基因组的表达(蒋时姣等

2015)。CuO NPs处理下,SOD活性迅速增强,加快清除体内过量产生的O₂⁻,从而减轻自由基的毒害效应;随着反应的进行和毒性效应的加重,SOD活性逐渐降低,歧化O₂⁻的能力也随之降低,相应的,O₂⁻含量开始大量的增加。POD和CAT能够清除过量的H₂O₂,防止膜脂质过氧化作用。不同浓度CuO NPs处理,POD的活性均大量增加,以保护机体减少活性氧物质的伤害。CAT具有较高的酶活速率,CuO NPs暴露24 h时,CAT活性便出现增强,说明其清除H₂O₂的能力增强,但随着胁迫的加剧,CAT活性出现降低的趋势。APX对H₂O₂具有较高的亲和性,是叶绿体中参与抗坏血酸-谷胱甘肽(AsA-GSH)循环的重要酶类(Arora等2002),CuO NPs处理诱导APX活性显著增加,分解H₂O₂,减轻H₂O₂的毒害效应。

细胞膜系统是氧化损伤发生后最先受到袭击的对象,会发生脂质的过氧化或者脱脂化,导致膜通透性增强,细胞内离子渗漏,引起细胞损伤或凋亡(辛慧慧等2014)。MDA是植物体内氧化应激的标志物,是膜脂过氧化作用的最终产物。拟南芥叶绿体MDA含量随着NPs处理时间的延长而逐渐增加,说明叶绿体膜脂发生过氧化,膜系统受到损伤。这一结果与Wang等(2012a)的研究结果一致,纳米颗粒能够引起细胞生物膜脂的过氧化。

由于CuO NPs会释放出铜离子,而过高的铜离子浓度也可能是造成植物毒性的不可忽略的因素(Maksymiec 1997)。本研究结果发现,Cu²⁺和CuO NPs对拟南芥的毒性效应不明显。由此说明,CuO NPs对植物的毒性效应要远大于CuO NPs,且CuO NPs释放的Cu²⁺对植物没有显著的抑制效应,CuO NPs对植物的抑制效应来自于纳米颗粒自身的特性。目前,大量关于纳米颗粒生态效应的研究结果将其毒性效应归结于纳米毒性,而非离子毒性

(Dietz和Herth 2011; El-Temsah和Joner 2012)。本研究对纳米颗粒的植物毒性效应进行了初步的研究,发现CuO NPs能够抑制拟南芥叶片的生长,并对叶绿体抗氧化系统具有一定的毒性效应。但影响纳米颗粒的毒性效应是多方面的,例如纳米颗粒的种类、粒径、化学组成、表面电荷、晶格结构等(王震宇等2010b),受试植物种类、纳米颗粒暴露浓度、暴露时间和暴露方式也是影响其毒性研究的原因(Remédios等2012),因此,不同环境下,不同纳米材料的生态毒性效应还有待进一步研究。

参考文献

- 陈花, 吴俊林, 李晓军(2008). 叶绿体中活性氧的产生和清除机制. 现代生物医学进展, (8): 1979~1983
- 蒋时姣, 钟宇, 刘海鹰, 张双, 吴富雨, 黄金亮, 张帆, 万雪琴(2015). 铝胁迫对柳杉组培苗生长及生理特性的影响. 植物生理学报, 51 (2): 227~232
- 王震宇, 于晓丽, 高冬梅, 封文强, 邢宝山, 李锋民(2010a). 人工合成纳米TiO₂和MWCNTs对玉米生长及其抗氧化系统的影响. 环境科学, 31 (2): 480~487
- 王震宇, 赵建, 李娜, 李峰民, 邢宝山(2010b). 人工纳米颗粒对水生生物的毒性效应及其机制研究进展. 环境科学, 31 (6): 1409~1418
- 辛慧慧, 李防洲, 侯振安, 冶军, 康文晶, 罗建(2014). 低温胁迫下棉花幼苗对外源水杨酸的生理响应. 植物生理学报, 50 (5): 660~664
- 杨玉芬, 陈清如(2002). 纳米材料的基本特征与纳米科技的发展. 中国粉体技术, 8 (3): 20~27
- 张中伟, 袁澍, 杜俊波, 薛立微, 林宏辉(2008). 大麦幼苗活性氧与其他叶绿体信号的关系. 西北植物学报, 28 (12): 2368~2373
- Asli S, Neumann PM (2009). Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide nanoparticles can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport. Plant Cell Environ, 32 (5): 577~584
- Arora A, Sairam RK, Srivastava CS (2002). Oxidative stress and anti-oxidative system in plants. Cur Sci, 82 (10): 1227~1238
- Bouwmeester H, Lynch I, Marvin HJP, Dawsom KA, Berges M, Barguer D, Byrne HJ, Casey A, Chambers G, Clift MJD (2011). Minimal analytical characterization of engineered nanomaterials needed for hazard assessment in biological matrices. Nanotoxicology, 5 (1): 1~11
- Dietz KJ, Herth S (2011). Plant nanotoxicology. Trends Plant Sci, 16 (11): 582~589
- Dimkpa CO, McLean JE, Latta DE, Manangón E, Britt DW, Johnson WP, Boyanov MI, Anderson AJ (2012). CuO and ZnO nanoparticles: phytotoxicity, metal speciation, and induction of oxidative stress in sand-grown wheat. J Nanopart Res, 14 (9): 4734~4742
- El-Temsah YS, Joner EJ (2012). Impact of Fe and Ag nanoparticles on seed germination and differences in bioavailability during exposure in aqueous suspension and soil. Environ Toxicol, 27 (1): 42~49
- Lee CW, Mahendra S, Zodrow K, Li D, Tsai Y, Braam J, Alvarez PJ (2010). Developmental phytotoxicity of metal oxide nanoparticles to *Arabidopsis thaliana*. Environ Toxic Chem, 29 (3): 669~675
- Lin DH, Xing BS (2007). Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. Environ Pollut, 150 (2): 243~250
- Liu GQ, Wang DM, Wang JM, Mendoza C (2011). Effect of ZnO particles on activated sludge: role of particle dissolution. Sci Total Environ, 409 (14): 2852~2857
- Maksymiec W (1997). Effect of copper on cellular processes in higher plants. Photosynthetica, 34 (3): 321~342
- Pisciotta JM, Zou YJ, Baskakov IV (2011). Role of the photosynthetic electron transfer chain in electrogenic activity of cyanobacteria. App Microbiol Biotechnol, 91 (2): 377~385
- Remédios C, Rosário F, Bastos V (2012). Environmental nanoparticles interactions with plants: morphological, physiological, and genotoxic aspects. J Bot, 27 (8): 1~8
- Saison C, Perreault F, Daigle J, Fortin C, Claverie J, Morin M, Popovic R (2010). Effect of core-shell copper oxide nanoparticles on cell culture morphology and photosynthesis (photosystem II energy distribution) in the green alga, *Chlamydomonas reinhardtii*. Aquat Toxicol, 96 (2): 109~114
- Shi JY, Abid AD, Kennedy IM, Hristova KR, Silk WK (2011). To duckweeds (*Landoltia punctata*), nanoparticulate copper oxide is more inhibitory than the soluble copper in the bulk solution. Environ Pollut, 159 (5): 1277~1282
- Song U, Shin MJ, Lee G, Roh J, Kim YH, Lee EJ (2013). Functional analysis of TiO₂ nanoparticle toxicity in three plant species. Bio Trace Ele Res, 155 (1): 93~103
- Wang Q, Ebbs SD, Chen YS, Ma XM (2013). Trans-generational impact of cerium oxide nanoparticles on tomato plants. Metallomics, 5 (6): 753~759
- Wang ZY, Li N, Zhao J, White JC, Qu P, Xing BS (2012a). CuO nanoparticle interaction with human epithelial cells: cellular uptake, location, export, and genotoxicity. Chemic Res Toxicol, 25 (7): 1512~1521
- Wang ZY, Xie XY, Zhao J, Liu XY, Feng WQ, White JC, Xing BS (2012b). Xylem- and phloem-based transport of CuO nanoparticles in maize (*Zea mays* L.). Environ Sci Technol, 46 (8): 4434~4441
- Yang XY, Edelman RE, Oris JT (2010). Suspended C60 nanoparticles protect against short-term UV and fluoranthene photo-induced toxicity, but cause long-term cellular damage in *Daphnia magna*. Aqua Toxicol, 100 (2): 202~210
- Zhang YX, Zheng J, Gao G, Kong YF, Zhi X, Wang K, Zhang XY, Cui DX (2011). Biosynthesis of gold nanoparticles using chloroplasts. Int J Nanomedic, 6: 2899~2906
- Zhao J, Wang ZY, Liu XY, Xie XY, Zhang K, Xing BS (2011). Distribution of CuO nanoparticles in juvenile carp (*Cyprinus carpio*) and their potential toxicity. J Hazard Mater, 197: 304~310
- Zhou DM, Jin SY, Li LZ, Wang Y, Weng NY (2011). Quantifying the adsorption and uptake of CuO nanoparticles by wheat root based on chemical extractions. J Environ Sci, 23 (11): 1852~1857