

金属纳米材料的植物生物效应及其多组学研究进展

陈春, 刘爽, 韦革宏

引用本文:

陈春, 刘爽, 韦革宏. 金属纳米材料的植物生物效应及其多组学研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(2): 217-228.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-1052>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

碳纳米颗粒诱发植物毒性效应及其机理的研究进展

李小康, 胡献刚, 周启星

农业环境科学学报. 2015, 34(11): 2041-2047 <https://doi.org/10.11654/jaes.2015.11.001>

纳米二氧化钛对佳乐麝香所引起的沙蚕(*Perinereis aibuhitensis*)神经毒性的影响

张倩茹, 姜丽思, 牟文燕, 王建美, 李斯雯

农业环境科学学报. 2018, 37(4): 665-672 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1530>

纳米材料在有机污染土壤修复中的应用与展望

岳宗恺, 周启星

农业环境科学学报. 2017, 36(10): 1929-1937 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-0330>

功能纳米材料在重金属污染水体修复中的应用研究进展

朱丹丹, 周启星

农业环境科学学报. 2018, 37(8): 1551-1564 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1581>

微塑料的环境行为及其生态毒性研究进展

刘沙沙, 付建平, 郭楚玲, 党志

农业环境科学学报. 2019, 38(5): 957-969 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-1016>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

陈 春, 刘 爽, 韦革宏. 金属纳米材料的植物生物效应及其多组学研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(2): 217–228.

CHEN Chun, LIU Shuang, WEI Ge-hong. Research trends of plant responses to metal nanomaterials and multi-omics analysis[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(2): 217–228.

金属纳米材料的植物生物效应及其多组学研究进展

陈 春^{1,2,3}, 刘 爽^{1,2,3}, 韦革宏^{1,2,3*}

(1. 西北农林科技大学生命科学学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 旱区作物逆境生物学国家重点实验室, 陕西 杨凌 712100; 3. 陕西省农业与环境微生物重点实验室, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:金属纳米材料(MNMs)在农业领域中的广泛应用,已经引起国内外学者对其生态风险的关注。传统毒理学研究方法与组学技术(转录组学、代谢组学和蛋白质组学)相结合,逐渐成为当前纳米生态毒理学研究领域的主要手段。本文首先从植物生长效应、亚细胞及生理生化水平等不同层次,分别评述了MNMs植物效应的传统毒理学研究的主要发现;其次,阐述了转录组学、蛋白质组学以及代谢组学等多组学技术在MNMs植物毒理学领域中应用的最新研究进展,旨在进一步揭示MNMs植物效应潜在的分子机制;最后分析了该领域的研究现状、尚待解决的问题和未来发展方向,并提出今后的研究思路。

关键词:金属纳米材料;植物毒理;多组学;毒性机制

中图分类号:X171.5 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2020)02-0217-12 doi:10.11654/jaes.2019-1052

Research trends of plant responses to metal nanomaterials and multi-omics analysis

CHEN Chun^{1,2,3}, LIU Shuang^{1,2,3}, WEI Ge-hong^{1,2,3*}

(1. College of Life Science, Northwest A&F University, Yangling 712100, China; 2. State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas, Yangling 712100, China; 3. Shaanxi Key Laboratory of Agricultural and Environmental Microbiology, Yangling 712100, China)

Abstract: The application of metal nanomaterials (MNMs) is growing worldwide, raising concern as to whether they may present a potential risk to the environment. In combination with traditional environmental toxicology, omics technologies (e.g., transcriptomics, metabolomics, and proteomics) have been used to sharpen understanding of toxic mechanisms of MNMs. In this review, we summarize the research related to the toxic effect of MNMs on plants at phenotypic, subcellular, physiological, and biochemical levels. We review recent advances in multi-omics technologies that provide new insights into the molecular mechanisms of MNMs phytotoxicity. To better understand the ecological effects of MNMs, we analyze the current research status and highlight the future challenges, perspectives, and strategies for multi-omics approaches.

Keywords: metal nanomaterials (MNMs); phytotoxicity; multi-omics; molecular mechanism

金属纳米材料(MNMs)是目前应用最为广泛的一类纳米材料,按其化学成分的不同可分为:金属、金属合金及金属化合物3大类^[1],商品化MNMs多以金属单质与金属氧化物居多^[2]。近年来,伴随着纳米技

术在农业领域中的快速发展,肥料、农药、兽药以及饲料等纳米化农业投入品的使用也日益增多,这类投入品的直接使用将会引起MNMs在农业生境中的暴露加剧^[3];人类日常使用的洗涤产品、化妆品及个人护

收稿日期:2019-09-23 录用日期:2019-11-23

作者简介:陈 春(1980—),男,安徽宿县人,副教授,硕士生导师,从事农业生境中人工纳米颗粒与环境微生物及其宿主的互作机制、人工纳米颗粒的环境化学行为与生物效应以及纳米科技与农业可持续发展等研究。E-mail:chunchen@nwfau.edu.cn

*通信作者:韦革宏 E-mail:weigehong@nwfau.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金面上项目(41771296);西北农林科技大学引进人才科研启动经费

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(41771296); The Scientific Research Starting Foundation for the Introducing Talents of Northwest A&F University

理品等中的 MNMs, 首先会伴随生活污水的排放进入污水处理厂, 然后通过污水灌溉或污泥农田施用等方式潜入土壤中; 另外, 大气中存在的 MNMs 也可通过团聚沉降或降水等方式迁移潜入土壤, 最终土壤将成为大多数 MNMs 的最终归宿^[4]。存在于土壤中的 MNMs 会对土壤生态系统产生何种效应, 已经引起国内外学者的广泛关注, 现有研究表明 MNMs 在植物体内的生物富集会沿陆地食物链逐级放大, 从而可能对整个陆地生态系统产生潜在的环境风险^[5]。组学技术的快速发展则为探究 MNMs 植物毒性效应提供了新的思路, 结合传统植物毒理学手段, 有望更加准确与深入阐释 MNMs 毒性的分子机制。

1 MNMs 传统植物毒理学研究

关于 MNMs 植物效应方面的研究, 传统毒理学方法主要采用叶面喷施、水培或土壤基质染毒的方式, 观察 MNMs 暴露胁迫下植物生长、亚细胞以及生理生化水平层次上的生物效应。

1.1 植物生长水平

植物生长效应的评价指标一般包括发芽率、茎长、根长、叶片数和生物量等。早期国内外学者陆续开展了典型纳米颗粒 (ZnO、Ag、CuO、CeO₂ 等) 对大豆、水稻、小麦、苜蓿、黄瓜等作物生长影响的研究^[6-9]。在营养液、砂质或土壤等不同暴露基质中, 某些纳米颗粒 (NPs) 暴露浓度超过某一阈值时, 便会对植物生长造成一些负面效应, 主要表现为种子萌发和根伸长受到抑制以及生物量的显著减少等。通常水培基质中 NPs 的效应浓度水平要远低于土壤, 这是由于 NPs 进入土壤之后会发生溶解、团聚等化学变化。而土壤复杂的理化因素也会影响 NPs 的稳定性与生物可利用性^[10-11]。其中, 土壤 pH 值是影响土壤中可溶性金属离子类 MNMs 毒性效应的关键因子, 研究发现酸性土壤中 NPs 对植物的毒性强度要高于碱性土壤, 这是由于酸性条件 MNMs 金属离子的释放速率与移动性增强^[12-13]; 此外, 土壤离子强度或有机质含量也会影响 NPs 在土壤中的环境行为, 离子强度的升高可引起 NPs 团聚速率的增加^[14], 有机质中腐植酸等物质可吸附于 NPs 颗粒表面, 增加 NPs 表面静电斥力, 从而减缓 NPs 的团聚效应^[15-16], 促使 NPs 在植物体内迁移, 提高生物可利用性, 最终加剧植物的毒性水平。研究发现粗砂暴露条件下, 500 mg·kg⁻¹ CuO NPs 和 500 mg·kg⁻¹ CeO₂ NPs 不会对胡萝卜生长产生胁迫, 但

是相同浓度 ZnO NPs 暴露则显著抑制了胡萝卜总生物量的积累, 这表明同一种植物对于不同种类 MNMs 暴露的响应与耐受程度存在差异^[17]; 同一种 MNMs 暴露对于不同种类植物生长方面的效应压力也有所不同, 例如水培条件下 1600 mg·L⁻¹ ZnO NPs 暴露可导致紫花苜蓿和番茄种子的萌发率受到显著抑制, 而黄瓜种子的萌发率反而提高, 表明在种子萌发阶段不同种类植物对于 MNMs 暴露胁迫的响应表现与耐受力存在差异^[18]。

1.2 亚细胞水平

植物亚细胞结构主要包括细胞壁、细胞膜、细胞核和细胞器 (线粒体、叶绿体、内质网等)。对于植物亚细胞结构的观察, 不仅能帮助判别 NPs 是否进入植物体内, 了解 NPs 的入胞方式以及掌握其在细胞内的转运等关键信息, 还能确定 MNMs 作用的靶标器官并定位损伤组织, 这也是探析 NPs 植物毒性机理的必要基础。目前研究发现植物细胞可通过吞噬或胞饮等内吞作用摄取 NPs, 并且证实了 ZnO、Ag、CuO、TiO₂、ZVI (纳米零价铁) 等多种 MNMs 能够进入植物根细胞并在细胞内积累^[19-22]。NPs 的纳米尺寸效应与其独特的表面活性效应, 赋予其更易穿过植物细胞屏障的能力。NPs 首先附着于植物初生根表面, 随植物的生长发育进入根尖、侧根原基及根毛区域中, 并且通过细胞间隙或胞间连丝, 伴随养分运输到木质部, 进而纵向易位到茎叶; 粒径稍大的 NPs 可能会堵塞细胞孔隙或诱导细胞表面形成更大孔隙, 从而影响根部的水分及养分运输^[23-25]。此外, NPs 也可直接通过角质层或气孔被植物叶片吸收, 凭借维管组织运输到植株其他部位^[26-27]。进入叶肉细胞的 NPs 会导致叶绿体肿胀, 类囊体损伤及质体小球增多变大, 这些生物学现象皆反映出叶绿体可能是 MNMs 作用的靶位点之一, 但具体作用机制有待于进一步研究^[28-29]。植物生理生化变化与形态结构紧密相连, MNMs 的暴露胁迫除了影响植物细胞形态结构发生变化外, 还伴随着复杂的生理生化变化。

1.3 生理生化水平

大量研究证实 MNMs 暴露胁迫对植物的毒性机制之一是产生氧化胁迫。植物在抵御氧化胁迫时, 一方面会通过产生如还原型谷胱甘肽 (GSH) 等小分子有机物来消耗体内的活性氧簇 (ROS), 另一方面会通过诱导体内一系列抗氧化酶的活性来清除 ROS。ROS 主要包括单线态氧 (¹O₂)、超氧阴离子自由基 (O₂^{·-})、过氧化氢 (H₂O₂) 和羟基自由基 (HO·) 等, 其通常产生

于植物细胞叶绿体、线粒体及过氧化物酶体等亚细胞结构中^[30]。植物抗氧化的第一道防线是通过超氧化物歧化酶(SOD)催化 $O_2\cdot$ 产生歧化产物 H_2O_2 ,而后由过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)或抗坏血酸过氧化物酶(APX)等进一步清除 H_2O_2 。同时,抗坏血酸、谷胱甘肽、类胡萝卜素、生育酚及酚类化合物等小分子代谢物也参与植物ROS的清除^[31]。低水平ROS可作为信号分子参与植物防御反应,传递信息至抗氧化防御系统,从而诱导抗氧化酶活性升高;然而,当ROS水平超出抗氧化防御系统的清除能力时,便会导致抗氧化酶蛋白组分发生氧化损伤,从而使抗氧化酶水平逐渐下降,进而破坏抗氧化酶系统。同时,植物体内积累的ROS会进一步与脂类、蛋白质、核酸等生物大分子直接反应导致机体氧化损伤。测定植物体内抗氧化酶活性和脂质过氧化水平,通常可以表征植物抵御MNMs胁迫的能力以及机体氧化损伤的程度。多数研究皆发现MNMs暴露可诱导大豆、豌豆、水稻、拟南芥等植物细胞中ROS的产生,进而引起一系列的植物防御反应,主要表现为丙二醛(MDA)水平升高、抗氧化酶活性改变、叶绿素水平降低以及氧化应激损伤程度加剧等^[32-35]。兰丽贞等^[36]研究发现在水培条件下,随着 TiO_2 NPs暴露浓度增加($0.05\sim 1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)与暴露时间(0、7 d和14 d)延长,拟南芥叶片及根部中SOD水平呈逐渐下降的趋势,同时植物体内MDA含量呈递增趋势;Çekiç等^[37]发现高剂量Ag NPs($80\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)在水培暴露条件下可引起番茄体内SOD、APX活性显著降低,并引发DNA损伤和脂质过氧化作用,继而对番茄植物造成一定的毒害。

2 MNMs植物生物效应的多组学研究

2.1 转录组学(Transcriptomics)

转录组学是基于RNA水平研究细胞基因表达及调控规律的一门学科^[38],目前检测技术主要分为两大类:(1)基于杂交的DNA微阵列(Microarray);(2)基于测序分析的大规模平行测序技术(MPSS)、表达序列标签技术(EST)、基因表达系列分析技术(SAGE)和RNA测序技术(RNA-Seq)等。其中,RNA-Seq由于其高通量、高分辨率、低背景且不依赖于基因组信息等优势,而被广泛应用于转录组学研究^[39-40]。近年来,转录组学在植物逆境胁迫、抗病防御及发育调控等方面的应用越来越广泛。已经有不少学者通过转录组学技术,得到植物体在某些MNMs暴露胁迫下的植物差异转录图谱和代谢通路,并筛选出某些关键表

达差异基因,相关部分研究列于表1。MNMs的暴露可诱导植物某些基因在转录水平的差异表达,这些差异基因主要与植物体内响应非生物胁迫(氧化胁迫、水分胁迫、盐胁迫和渗透胁迫等)和生物胁迫(伤口刺激和病原体入侵),重金属解毒及转运和DNA复制、转录及翻译调控相关。在水培基质中, ZnO NPs($4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 与 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)^[41-42]、Ag NPs($5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)^[43]、CuO NPs($10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)^[44]暴露下的拟南芥, $500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ZnO NPs^[45]暴露下的玉米体内SOD、POD等抗氧化酶基因的表达皆会受到诱导而显著上调; $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu NPs暴露胁迫下,小麦体内参与苯丙烷代谢(合成酚类化合物清除ROS)与脯氨酸代谢(植物体一种有效抗氧化剂^[46])相关的基因表达显著上调^[47]。此外,暴露在含有 $1400\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ZnO NPs、 $180\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Ag NPs和 $5000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ TiO_2 NPs的土壤中(老化6个月后),蒺藜苜蓿体内与抗氧化胁迫相关的基因也会表现出显著上调^[48]。这些现象都表明MNMs暴露诱导了植物抗氧化防御系统的响应。质膜内在蛋白与水通道蛋白可介导植物水分与养分的跨膜和长距离运输,其相关基因的响应表达可能是由于MNMs纳米尺度的物理作用引起水通道堵塞,从而导致植物发生水分胁迫。同时, $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ZnO NPs^[41]、 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ CuO NPs^[44]水培暴露可导致拟南芥体内与根发育相关的基因(包括细胞壁修饰、根形态发生和根毛发育等)下调表达,表明了MNMs会破坏根表细胞并抑制植物根的发育;而 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Al_2O_3 NPs水培暴露则显著增加了拟南芥体内与根发育和伸长相关基因的转录表达^[49],体现了植物对于不同种类MNMs胁迫在转录水平响应表达的特异性。重金属转运及解毒蛋白(锌转运蛋白、金属硫蛋白和重金属ATP酶等)在植物重金属吸收及解毒调控中发挥着关键作用,这类基因的显著上调表明MNMs释放的重金属离子可能是其产生毒性的一种主要机制^[50-52]。研究还发现 ZnO NPs在水培暴露(4 、 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)下可以引起拟南芥微管蛋白相关基因的下调表达,而拟南芥微管的重组与微管蛋白单体的加速降解存在一定的联系,这些微管蛋白又参与细胞分裂过程,可能预示MNMs会影响植物的细胞分裂,从而给植物生长带来负面的影响^[41-42,53]。

转录组学虽然可以展现转录水平植物对MNMs暴露的响应,但其仅能反映基因表达的中间状态,而蛋白质作为基因的最终产物,在全面分析基因表达的过程中具有不可替代的作用。另外,由于存在转录及翻译后的调控与修饰,基因的转录和其产物蛋白的表

表1 植物响应 MNMs 暴露的转录组学研究的主要发现

Table 1 Transcriptomic response of plant exposed to metal nanomaterials(MNMs)

MNMs 种类 MNMs species	供试植物 Test plants	暴露浓度 Concentration	暴露时间 Exposure time/d	实验结果(表达差异 ≥ 2 倍) Results(expression difference ≥ 2 -fold)	文献 References
ZnO	拟南芥	4 mg·L ⁻¹	7	上调:响应非生物胁迫(氧化胁迫、盐胁迫、渗透胁迫以及水分胁迫)和生物胁迫(病原体防御),参与 Zn ²⁺ 结合、转运及稳态 下调:参与细胞组织和生物发生(微管蛋白、阿拉伯半乳糖蛋白),DNA 或 RNA 代谢(组蛋白)	[41]
	拟南芥	100 mg·L ⁻¹	7	上调:响应非生物胁迫(氧化胁迫、盐胁迫、渗透胁迫以及水分胁迫)和生物胁迫(伤口刺激、病原体防御),侧根发育 下调:参与细胞组织和生物发生(翻译、核小体组装、微管蛋白),电子传递	[42]
	玉米	500 mg·L ⁻¹	5	上调:茎叶,响应氧化应激(抗氧化酶);根,重金属离子转运、氮化合物代谢 下调:茎叶,“富含亮氨酸的重复激酶”家族基因;根,细胞色素 P450 超家族基因	[45]
Ag	拟南芥	5 mg·L ⁻¹	10	上调:响应非生物胁迫(金属胁迫、氧化胁迫、盐胁迫、渗透胁迫、饥饿胁迫以及水分胁迫) 下调:响应病原体胁迫及激素刺激(脱落酸、生长素和乙烯等)	[43]
Cu	小麦	1 mg·L ⁻¹	10	上调:响应氧化应激(苯丙烷类生物合成、脯氨酸代谢)和跨膜转运(阴离子转运、重金属离子转运和 ATP 结合等)的基因 下调:参与 DNA 复制	[47]
CuO	拟南芥	10 mg·L ⁻¹	7	上调:响应非生物胁迫(氧化胁迫)和生物胁迫(昆虫、病原体防御),Cu ²⁺ 结合和转运,植物激素信号转导(茉莉酸、水杨酸、乙烯和重金属等) 下调:参与金属稳态和转运(过渡金属转运、硝酸盐、氨基酸、寡肽和水),根毛发育	[44]
Al ₂ O ₃	拟南芥	10 mg·L ⁻¹	10	上调:响应非生物胁迫(氧化胁迫)和生物胁迫(病原体防御),细胞壁发育,氮磷转运以及根发育	[49]
ZnO、Ag、TiO ₂ (老化6个月)	蒺藜苜蓿	1400 mg·kg ⁻¹ 180 mg·kg ⁻¹ 5000 mg·kg ⁻¹	28	上调:茎叶,响应氧化应激(黄酮类化合物代谢、苯丙烷类化合物代谢);根,响应氧化应激(抗氧化酶、细胞色素 P450 家族),金属稳态(过渡金属离子结合、转运、金属离子结合)和乙烯生物合成 下调:茎叶,光合作用;根,参与根瘤的发育及固氮(早期结瘤蛋白、豆血红蛋白)和氮代谢	[48]

达有时存在不一致性,并且利用转录组学研究无参考基因组的非模式植物时,一些测序转录本难以进行注释,因此需借助蛋白质组学进一步完善,以期更加全面地阐释植物对 MNMs 暴露的响应机制^[54]。

2.2 蛋白质组学(Proteomics)

蛋白质是生物体生命活动的主要承担者,是基因功能的执行者。蛋白质组学是通过鉴定生物体全套蛋白质的组成及表达水平,从细胞水平研究其变化规律、修饰情况以及相互作用的一门学科^[55-56]。蛋白质组学分析的主要流程分为:蛋白质的分离纯化、鉴定以及生物信息学分析。蛋白质的分离技术主要包括电泳和色谱。鉴定技术一般分为质谱和同位素标记定量技术。生物信息学分析主要是指通过数据库对蛋白质结构和功能进行科学预测。目前,蛋白质氨基酸序列数据库有 PIR(国际蛋白质序列数据库)、SWISS-PROT(瑞士,经过注释的蛋白质序列数据库)等,蛋白质结构数据库主要有 PDB、SWISS-2DPAGE(瑞士,经过注释的二维聚丙烯酰胺凝胶电泳数据库)等^[40,57-58]。近期采用蛋白质组学技术研究 MNMs 植物效应的相关结果归纳于表2。GSH 在植物应对外界

胁迫过程中起着关键作用,不仅能够清除细胞内的活性氧自由基,还能通过与细胞内的重金属离子螯合起到解毒作用。Ag NPs 水培暴露下的水稻(30~60 mg·L⁻¹)^[59]与芸芥(10 mg·L⁻¹)^[60],其植物体内多种与 GSH 合成相关的蛋白酶水平皆显著提升,表明植物通过增加 GSH 的合成来抵御 MNMs 引起的氧化胁迫;PYK10(β -葡萄糖苷酶 23)是植物细胞为抵御外界环境胁迫而形成的一种新型内质网衍生结构,它是内质网体(ER Body)的主要组成成分,机械损伤或外源植物激素均可诱导 ER Body 的产生。10 mg·L⁻¹ Ag NPs 水培暴露可导致芸芥根部 PYK10 水平升高,表明 MNMs 暴露可能对芸芥根部造成一定的机械损伤^[60-63]。光合作用、三羧酸循环以及糖酵解等代谢途径是植物体内主要的产能途径,25 mg·kg⁻¹ Cu NPs 和 Fe NPs 土壤暴露下的小麦体内参与糖酵解相关蛋白的上调表达^[64]、10 mg·L⁻¹ Ag NPs 水培暴露下的烟草^[65]及小麦^[66]体内参与糖酵解及 ATP 合成相关蛋白的上调表达,菜豆体内光系统相关蛋白在 250、2000 mg·kg⁻¹ CeO₂ NPs 土壤暴露下被显著激活^[67],这些产能途径的激活可以帮助细胞产生更多的 ATP 与还原力(如 NADPH),从而

表2 植物响应 MNMs 暴露的蛋白质组学研究的主要发现

Table 2 Proteomics response of plant exposed to metal nanomaterials(MNMs)

MNMs 种类 MNMs species	供试植物 Test plants	暴露浓度 Concentration	暴露时间 Exposure time	实验结果 Results	文献 References
Ag	水稻	30、60 mg·L ⁻¹	20 d	上调:氧化应激(超氧化物歧化酶、L-抗坏血酸过氧化物酶和谷胱甘肽-s-转移酶), 转录和蛋白质降解(蛋白酶体亚基、翻译控制蛋白和NAC转录因子等) 下调:脱落酸干旱诱导蛋白、钙调蛋白	[59]
	芸芥	10 mg·L ⁻¹	5 d	上调:氧化应激(超氧化物歧化酶、II型过氧化物酶),硫代谢(凝集素蛋白家族、半胱 氨酸合酶和蛋氨酸合酶同工酶),β-葡萄糖苷酶 下调:与内质网和液泡相关(腔结合蛋白1、热休克蛋白70-2和液泡型质子ATP酶亚基)	[60]
	大豆	50 mg·L ⁻¹	3 d	上调:蛋氨酸γ裂解酶 下调:氧化应激(GDSL基序脂肪酶、半乳糖氧化酶和醌还原酶等),枯草杆菌酶家族 蛋白,3-脱氧-D-阿拉伯-庚酮糖-7-磷酸合酶	[69]
	大豆	50 mg·kg ⁻¹	21 d	上调:氧化应激(超氧化物歧化酶),光合作用(核酮糖双磷酸羧化酶/氧化酶、ATP合 酶和叶绿素a-b结合蛋白等),蛋白合成(蛋白酶体)	[68]
	烟草	10 mg·L ⁻¹	30 d	上调:氧化应激(过氧化氢酶、抗坏血酸过氧化物酶和超氧化物酶),光合作用(ATP 合酶CF1ε亚基、核酮糖-1,5-双磷酸羧化酶/氧化酶和β-碳酸酐酶等),糖代谢(质体 醛缩酶、磷酸丙糖异构酶和甘油醛-3-磷酸脱氢酶等),蛋白质折叠(亲环蛋白、肽基- 脯氨酸-反式异构酶),RNA加工(富含甘氨酸的RNA结合蛋白、mRNA结合蛋白前 体),氨基酸代谢(谷氨酰胺合成酶),发病相关(Pathogenesis-related protein)蛋白	[65]
	小麦	10 mg·L ⁻¹	5 d	上调:根部,氧化应激(甲硫氨酸合成酶),糖代谢(α-淀粉酶、果糖二磷酸醛缩酶和细胞 质苹果酸脱氢酶),细胞壁合成(糖基化多肽),蛋白质合成(真核翻译起始因子, 60S酸性核糖体蛋白);茎叶,氧化应激(S-腺苷甲硫氨酸合成酶),三羧酸循环(乌头 酸水合酶) 下调:根部,与内质网相关蛋白(ER驻留蛋白、细胞色素b5);茎叶,光合作用 (HCF136蛋白、细胞色素b5)	[66]
CeO ₂	菜豆	250、1000 mg· kg ⁻¹	14 d	上调:光合作用(光系统I-N亚基、光系统II反应中心Psb28蛋白以及叶绿体蛋白 ATP合成酶亚基α),蛋白质合成与降解(聚腺苷酸结合蛋白、ATP依赖性Clp蛋白酶 与羧肽酶) 下调:氧化应激(细胞溶质抗坏血酸过氧化物酶、谷胱甘肽过氧化物酶),光合作用 (光系统I铁硫中心),蛋白质合成(核糖体蛋白V7ADT7、60 kDa伴侣蛋白,GrpE蛋 白同源物)	[67]
Fe	小麦	25 mg·kg ⁻¹	小麦 成熟期	上调:氧化应激(超氧化物酶),蛋白合成与降解(热休克蛋白、管腔结合蛋白和伴侣 蛋白ClpB1),糖代谢(烯醇化酶、果糖二磷酸醛缩酶以及蔗糖合成酶等)	[64]

迅速为植物合成防御化合物提供能量。此外,还有一些与蛋白质折叠与易位相关的蛋白质(例如蛋白酶体、NAC转录因子和内质网腔结合蛋白等)的表达水平也发生了变化,表明 MNMs 胁迫会干扰蛋白质的转运及翻译后修饰^[59-60,66-68]。然而,由于转录、转录后及翻译后调节机制、蛋白表达时间的滞后性以及测序背景噪音等原因,使转录组及蛋白组数据之间的相关性并不高。考虑到植物小分子代谢物是其上游基因与蛋白质功能性变化的最终体现,借助植物代谢组学可广泛筛选一些差异代谢物,从而能够更直接准确地了解植物体在逆境胁迫下的生理状态,并建立代谢组学与植物表型之间的内在联系^[70-71]。

2.3 代谢组学(Metabolomics)

生物体的代谢物通常由多种性质不同的小分子化合物组成,是细胞调节过程的终端产物,能直观反映生物体对环境变化的响应^[72-73]。代谢组学可灵敏地反映生物体在逆境胁迫下代谢水平的细微变化,通

过明确代谢物对各种应激源的响应,建立与生物体表型之间的内在关联。代谢组学根据其研究目的主要分为靶向代谢组学和非靶向代谢组学:靶向代谢组学只对特定的已知代谢物进行定量分析,常用于对已知代谢途径进行深入探究;非靶向代谢组学可对生物体内源性代谢物进行系统分析,获取特定实验条件下的差异代谢物,在生物标志物与代谢通路的发现等方面应用较为广泛^[74-75]。目前代谢组学普遍采用的研究手段包括两类:核磁共振和质谱-色谱联用技术。核磁共振技术具有无需样品前处理、无损性、无偏向性、实时动态等优点,但灵敏度相对较低;而质谱-色谱联用技术因其灵敏度高、分辨率好,且能同时检测多种组分等优点,逐渐被广泛应用于代谢组学领域,其中应用最为广泛的是气相色谱-质谱技术和液相色谱-质谱技术^[71,76-77]。有关 MNMs 植物效应代谢组学近期研究的主要发现总结于表3。Ag NPs 叶面喷施后(10、100 mg·L⁻¹)的黄瓜^[78]、Cu NPs 土壤(200、400、

800 mg·kg⁻¹)^[79-80]及水培暴露(10、20 mg·L⁻¹)下的黄瓜^[81]、CeO₂ NPs 土壤暴露(250、2000 mg·kg⁻¹)下的菜豆^[67]以及TiO₂ NPs 水培暴露(100、250、500 mg·L⁻¹)下的水稻^[82],这些植物体内酚类化合物的水平均显著升高。酚类化合物是植物体内一类具有抗氧化活性的次级代谢产物,它们的积累可能是植物抵御 MNMs 氧化胁迫的策略之一^[78]。氨基酸是植物初级代谢的重要组成部分,也是植物体内氮代谢的主要形式,Ag NPs 叶面喷施(10、100 mg·L⁻¹)^[78]、Cu NPs 土壤暴露(200、400、800 mg·kg⁻¹)^[79-80, 83]和水培暴露(10、20 mg·L⁻¹)^[81]都会诱导黄瓜体内氨基酸的组成发生变化,表明 MNMs 可能会干扰植物体的氮代谢过程。Ag NPs 暴露后的拟南芥(12.5 mg·kg⁻¹ 土壤暴露)^[84]、黄瓜(10、100 mg·L⁻¹ 叶面喷施)^[78]、Cu NPs 水培暴露(10、20 mg·L⁻¹)后的黄瓜^[81]以及TiO₂ NPs 水培暴露(100、250、500 mg·L⁻¹)后的水稻^[82]体内苹果酸、琥珀酸、异柠檬酸等三羧酸循环中间体发生积累,而三羧酸循环是植物体氧化产能的主要途径之一,植物体可能通过这种方式为植物抵御 MNMs 胁迫和修复受损大分子

等提供足够的能量。此外,10、20 mg·L⁻¹ Cu NPs 水培暴露与10、100 mg·L⁻¹ Ag NPs 叶面喷施处理后,黄瓜体内壬酸(膜损伤的指标)和十五烷酸水平(磷脂双分子层的主要组分)分别受到显著上调,这些现象可能预示着细胞膜完整性遭到破坏^[78-81]。

3 MNMs 与植物相互作用机制

植物体在长期适应外界环境的过程中形成了多种防御与耐受机制,如改变自身形态结构、调节基因表达和改变代谢物水平等,从而保护植物细胞免受各类胁迫的影响。目前研究表明 MNMs 产生植物毒性的来源主要是颗粒的尺度效应、表面活性以及自身释放的游离金属离子^[86]。这种来源途径的不同也造成了不同种类 MNMs 的毒性差异。对于金属离子溶解度大的 MNMs 如 ZnO NPs、Ag NPs 等,其植物毒性主要与其释放出的金属离子所关联,而对于部分难溶性或溶解度低的 MNMs 如 TiO₂ NPs、SiO₂ NPs,其与细胞的直接接触以及表面光敏特性等被认为是导致细胞毒性的主要因素^[87]。

表3 植物响应 MNMs 暴露的代谢组学研究的主要发现

Table 3 Metabolomics response of plant exposed to metal nanomaterials (MNM)s

MNMs 种类 MNM Species	供试植物 Test plants	暴露浓度 Concentration	暴露时间 Exposure time/d	实验结果 Results	文献 References
Ag	黄瓜	10、100 mg·L ⁻¹	7	上调:酚类(顺式-2-羟基肉桂酸、阿魏酸和肉桂酸乙酯等),糖类(棉子糖、乳果糖和赖氨酸等),糖醇类(二硫赤藓糖醇、苏糖醇和D-阿拉伯糖醇等),脂肪酸类(十五烷酸、花生四烯酸),有机酸类(琥珀酸、异柠檬酸),天冬氨酸,N-甲基-L-谷氨酸,植醇 下调:脂肪酸类(亚油酸、亚麻酸),氨基酸类(谷氨酰胺、天冬酰胺和甘氨酸/丝氨酸比率)	[78]
	拟南芥	12.5 mg·kg ⁻¹	45	上调:有机酸类(苹果酸、富马酸),糖类(半乳糖、塔格糖),氨基酸类(苏氨酸) 下调:氨基酸类(缬氨酸、丝氨酸和天冬氨酸),酚类(没食子酸、东莨菪素、苯甲酸)	[84]
Cu	黄瓜	400、800 mg·kg ⁻¹	60	上调:酚类(没食子酸水合物、对香豆酸和苯甲酸) 下调:酚类(香草酸、肉桂酸衍生物)	[79]
	黄瓜	200、400、800 mg·kg ⁻¹	68	上调:氨基酸类(缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸等),脂肪酸类(辛酸、亚麻酸) 下调:氨基酸类(甘氨酸、脯氨酸和赖氨酸等),有机酸类(苯甲酸、柠檬酸和戊二酸),糖类(木糖、果糖),肌醇	[83]
	黄瓜	200、400、800 mg·kg ⁻¹	60	上调:氨基酸类(酪氨酸、苯丙氨酸和谷氨酰胺等) 下调:氨基酸类(苏氨酸、蛋氨酸)	[85]
	黄瓜	10、20 mg·L ⁻¹	7	上调:酚类(水杨酸、4-羟基苯甲酸和苯甲酸),氨基酸类(赖氨酸、苏氨酸和苯丙氨酸等),脂肪酸类(2-羟基戊酸、壬酸),抗坏血酸 下调:糖及糖醇类(赤藓糖醇、果糖-6-磷酸及N-乙酰-D-半乳糖胺等),有机酸类(庚二酸、己酸、香草酸和柠檬酸)	[81]
	黄瓜	200、400、800 mg·kg ⁻¹	87	上调:有机酸类(琥珀酸、丙酮酸和苯甲酸等),氨基酸类(脯氨酸、异亮氨酸和缬氨酸等),脂肪酸类(壬酸、花生酸) 下调:氨基酸类(鸟氨酸、瓜氨酸和蛋氨酸等),有机酸类(柠檬酸),脂肪酸类(甘油),肌醇	[80]
CeO ₂	菜豆	250、400、1000 mg·kg ⁻¹	14	上调:酚类(木脂素、肉桂酰-β-D-葡萄糖苷和水杨酸),赖氨酸代谢(2-氧代己二酸、二氨基庚二酸) 下调:胡萝卜素,番茄红素和视紫红质衍生物	[67]
TiO ₂	水稻	100、250、500 mg·L ⁻¹	14	上调:糖类(葡萄糖-1-磷酸、葡萄糖-6-磷酸和果糖-6-磷酸),氨基酸类(甘氨酸、谷氨酰胺和异亮氨酸),有机酸类(柠檬酸、苹果酸和琥珀酸等),脂肪酸类(十八烷酸、亚油酸和亚麻酸),维生素类(泛酸、抗坏血酸、生育酚),酚类(莽草酸、肉桂酸、水杨酸) 下调:糖类(蔗糖、麦芽糖、异麦芽酮糖)、乙醛酸	[82]

由此推测 MNMs 与植物体相互作用的机制主要包括以下几个方面(图1):(1)MNMs 颗粒物理过程引发的机械效应。进入土壤中的 MNMs 一部分会黏附于植物根表,并在转运过程中与细胞屏障发生摩擦、阻塞等一系列相互作用,从而引起细胞壁、细胞膜组分破损以及胞间连丝等细胞通道的堵塞^[88]。进入细胞内部的 MNMs 还可能与纳米及微米尺寸的细胞结构发生相互作用,这也被看作是纳米颗粒产生毒性效应的一种方式^[89],通常这种相互作用会干扰膜表面的电子传递,造成线粒体和叶绿体等细胞器结构损伤,直接影响植物能量及光合代谢,严重时甚至会造成细胞死亡^[90]。(2)MNMs 释放的金属离子的化学作用(氧化还原活性、催化活性等)。有研究发现,MNMs 与其对应的金属离子在相同暴露条件下诱导的植物转录组基因表达谱十分相似,这表明 MNMs 释放的金属离子引发的生物效应是纳米材料毒性的主要来源之一^[42-44]。组成 MNMs 核心金属的类型可以影响 MNMs 被植物摄取的方式、在细胞内作用的靶标等关键因素,从而对 MNMs 的最终毒性起到决定性作用^[91]。例如 Fe^{2+} 会与 H_2O_2 反应生成高反应活性的 $\text{HO}\cdot$,从而导致细胞内的有机大分子发生氧化损伤; Ag^+ 会与蛋白

质的巯基结合导致蛋白质变性失活;某些金属离子会竞争性替代植物体某些成分的核心金属原子,破坏植物细胞金属离子稳态,例如 Ag^+ 可以通过竞争性替代质体蓝素中的 Cu^{2+} 来影响光合作用^[92], ZnO NPs 释放的 Zn^{2+} 可以替代叶绿素中心的 Mg^{2+} ,导致光合核心的改变,进而导致植物毒性^[93]。(3)氧化胁迫损伤。这是目前普遍接受的 MNMs 产生植物毒性的主要机制之一,大多数研究也发现 MNMs 暴露后植物体抗氧化酶活以及相关编码基因在转录表达水平的变化,这些皆已表明 MNMs 暴露可诱导植物体抗氧化防御系统的响应。化学合成的 MNMs 表面通常残留有还原基团,环境中氧原子或羟基的存在会使 MNMs 具有表面电荷,并且由于小尺寸而增大的比表面积增加了 MNMs 与细胞内各种物质反应的几率,这些因素都决定了 MNMs 具有极强的表面活性^[94-95],在接触植物细胞后,高反应性的 MNMs 会诱导 ROS 产生,引发植物氧化胁迫。植物体内存在一套复杂的抗氧化防御系统,用于维持体内 ROS 的动态平衡,当氧化还原稳态失衡时,ROS 会进一步造成蛋白质、DNA、生物膜及其他组分等发生氧化损伤,并干扰细胞信号转导^[96-97]。此外,大量积累的 ROS 也会通过阻碍叶绿素合成及

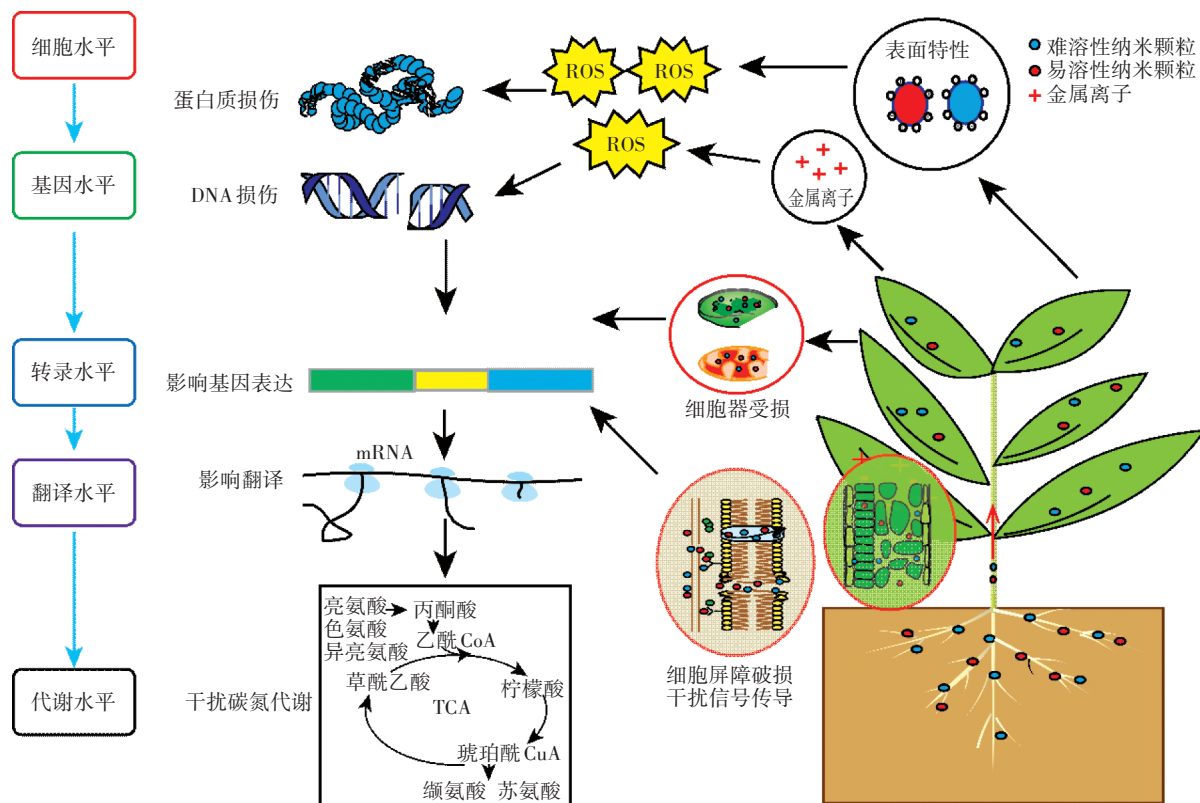


图1 MNMs与植物的相互作用

Figure 1 Schematic representation of MNMs and plants interactions

加速叶绿素降解两种途径最终导致植物叶绿素含量下降,从而对植物光合作用产生负面效应^[98]。(4)影响植物基因复制、转录及蛋白质合成,干扰植物碳氮代谢。MNMs胁迫下植物体与DNA复制(组蛋白、核小体组装等)相关基因在转录水平的下调,蛋白水平上协助蛋白质折叠与易位(热休克蛋白、伴侣蛋白),调控转录及翻译(转录因子、翻译控制蛋白、翻译起始因子等)的蛋白水平的波动,这些都印证了MNMs对植物体转录及翻译过程的干扰。基于转录表达水平层次,1 mg·L⁻¹ Cu NPs水培暴露下的小麦^[47]和500 mg·L⁻¹ ZnO NPs水培暴露下的玉米^[45]体内与氮代谢有关基因的上调,MNMs混合土壤暴露(1400 mg·kg⁻¹ ZnO NPs、180 mg·kg⁻¹ Ag NPs和5000 mg·kg⁻¹ TiO₂ NPs,老化6个月后)下蒺藜苜蓿根部与结瘤固氮和氮代谢相关的基因表达的下调^[48],以及代谢水平层次上,Ag NPs(10、100 mg·L⁻¹,叶面喷施)^[78]、Cu NPs(10、20 mg·L⁻¹,水培暴露^[81];200、400、800 mg·kg⁻¹,土壤暴露^[83])均导致黄瓜体内氨基酸组成发生变化,这些都表明MNMs对于植物体氮代谢过程产生了影响。蛋白质组学与代谢组学研究还显示碳代谢(光系统、三羧酸循环和糖酵解)相关的蛋白与其代谢物水平也会受到MNMs暴露胁迫的显著干扰^[64,82]。

4 存在问题及前景

近年来,越来越多的学者将组学手段应用于MNMs植物毒理研究中,现有的研究结果已经发掘了部分植物响应MNMs的差异基因、差异蛋白以及差异代谢物等,并预测了部分相关代谢通路,为我们后续进一步研究MNMs植物毒性的分子机理提供了新的思路,就目前研究来看,仍有以下几个问题亟待解决:

(1)目前大部分研究仅局限使用单一组学技术,然而生物体代谢通路及调控错综复杂,且基因、蛋白与代谢物的表达具有时空差异,单一组学数据通常具有一定的片面性,因而仅依靠一种组学研究手段难以获取完整的生物学信息,未来开展MNMs植物毒性内在分子机制的探究,仍需要采用多种组学整合手段。此外,如何将庞大的多组学数据与植物表型数据进行科学的整合分析,建立植物基因、蛋白及内源代谢物与表型变化之间的联系也是未来研究的重点。

(2)当前大多数研究采用水培或砂土作为培养基质而非真实土壤,培养条件多是受控的实验室或温室而非真正的自然条件,且研究多集中于MNMs高浓度急性短期暴露实验,考虑到实际存在土壤中MNMs的

现实浓度,并且由于MNMs进入土壤中会发生溶解、聚集、吸附等一系列化学反应,目前亟需开展更贴近实际环境中MNMs的低浓度长期土壤暴露实验,以获取更加科学有效的数据。

(3)MNMs的植物生物效应还取决于以下几个因素:MNMs本身特有的性质(MNMs种类、形状、粒径、表面结构以及稳定性与溶解性等理化特征),植物生理因素(如植物的不同种类、植株不同生长阶段和不同组织器官响应与耐受程度各异),实验设计因素(如MNMs的施用方式、暴露浓度、暴露基质和暴露时间等差异)。但目前绝大多数研究在实验所用MNMs的理化性质、暴露浓度、暴露基质、供试植物种类及生长阶段等方面难以达到统一,导致大量实验结果不具可比性,需要对MNMs的来源、制备方法、供试植物的选择以及暴露条件的设计等进行规范化,建立一套标准系统的MNMs植物毒理研究方法。

(4)植物-土壤-微生物是一个不可分割的有机整体,MNMs对于植物的影响并不是孤立的。土壤提供植物与微生物生活的物质基础,土壤微生物又促进土壤养分的循环与转化,并通过氮素固定、影响根发育以及抑制植物病原菌等一系列途径,直接或间接地影响植物的生长,而植物通过产生根系分泌物选择与调节根际微生物的数量种类和定殖能力。关注MNMs暴露下植物应激表现与土壤养分功能以及土壤微生物群落变化响应之间的内在耦联作用,对于准确表征真实环境中MNMs植物效应具有现实意义。

参考文献:

- [1] 沈丽萍,王治东,周平坤.金属纳米材料的遗传毒性及遗传毒理机制[J].中华预防医学杂志,2015,49(9):831-834.
SHEN Li-ping, WANG Zhi-dong, ZHOU Ping-kun. The genetic toxicity and toxicology mechanism of metal nano materials[J]. *Chinese Journal of Preventive Medicine*, 2015, 49(9):831-834.
- [2] 李晓波.金属氧化物纳米颗粒的神经毒性研究[D].武汉:华中科技大学,2008.
LI Xiao-bo. Neurotoxicity of metal oxide nanoparticles[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2008.
- [3] 苗令占,王沛芳,侯俊.金属纳米材料对不同微生物聚集体的毒性研究进展[J].水资源保护,2019,35(1):77-82,98.
MIAO Ling-zhan, WANG Pei-fang, HOU Jun, et al. Research progress on toxicity of metallic nanomaterials to different microbial aggregates [J]. *Water Resources Protection*, 2019, 35(1):77-82, 98.
- [4] Gottschalk F, Sun T, Nowack B. Environmental concentrations of engineered nanomaterials: Review of modeling and analytical studies[J]. *Environ Pollut*, 2013, 181:287-300.
- [5] Judy J D, Unrine J M, Bertsch P M. Evidence for biomagnification of

- gold nanoparticles within a terrestrial food chain[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(2):776-781.
- [6] 王丽华,王发园,景新新,等. 纳米氧化锌和接种丛枝菌根真菌对大豆生长及营养吸收的影响[J]. 生态学报, 2015, 35(15):5254-5261. WANG Li-hua, WANG Fa-yuan, JING Xin-xin, et al. Effect of ZnO nanoparticles and inoculation with arbuscular mycorrhizal fungus on growth and nutrient uptake of soybean[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(15):5254-5261.
- [7] Rui M, Ma C, Tang X, et al. Phytotoxicity of silver nanoparticles to peanut (*Arachis Hypogaea* L.): Physiological responses and food safety[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2017, 5(8):6557-6567.
- [8] Abd-Alla M H, Nafady N A, Khalaf D M. Assessment of silver nanoparticles contamination on faba bean-*Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*-*Glomus aggregatum* symbiosis: Implications for induction of autophagy process in root nodule[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2016, 218:163-177.
- [9] 金盛杨,王玉军,汪 鹏,等. 不同培养介质中纳米氧化铜对小麦毒性的影响[J]. 生态毒理学报, 2010, 5(6):842-848. JIN Sheng-yang, WANG Yu-jun, WANG Peng, et al. Influence of culture media on the phytotoxicity of CuO nanoparticles to wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2010, 5(6):842-848.
- [10] 孙耀琴,申聪聪,葛 源. 典型纳米材料的土壤微生物效应研究进展[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(5):2-13. SUN Yao-qin, SHEN Cong-cong, GE Yuan. Review on microbiological effects of typical nanomaterials in soil ecosystem[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2016, 11(5):2-13.
- [11] Cornelis G, Thomas C D M, McLaughlin M J, et al. Retention and dissolution of engineered silver nanoparticles in natural soils[J]. *Soil Science Society of America*, 2012, 76(3):891-902.
- [12] Garcíagómez C, Obrador A, González D. Comparative study of the phytotoxicity of ZnO nanoparticles and Zn accumulation in nine crops grown in a calcareous soil and an acidic soil[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 644:770-780.
- [13] García-Gómez C, García S, Obrador A F, et al. Effects of aged ZnO NPs and soil type on Zn availability, accumulation and toxicity to pea and beet in a greenhouse experiment[J]. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 2018, 160:222-230.
- [14] 周东美. 纳米Ag粒子在我国主要类型土壤中的迁移转化过程与环境效应[J]. 环境化学, 2015, 34(4):605-613. ZHOU Dong-mei. Transport and transformation of nanoAg particle in soils and its environmental effects[J]. *Environmental Chemistry*, 2015, 34(4):605-613.
- [15] Han Y, Kim D, Hwang G, et al. Aggregation and dissolution of ZnO nanoparticles synthesized by different methods: Influence of ionic strength and humic acid[J]. *Colloids & Surfaces A Physicochemical & Engineering Aspects*, 2014, 451(1):7-15.
- [16] Majumdar S, Peralta-Videa J R, Trujillo-Reyes J, et al. Soil organic matter influences cerium translocation and physiological processes in kidney bean plants exposed to cerium oxide nanoparticles[J]. *Science of the Total Environment*, 2016, 569/570:201-211.
- [17] Ebbs S D, Bradfield S J, Kumar P, et al. Accumulation of zinc, copper, or cerium in carrot (*Daucus Carota*) exposed to metal oxide nanoparticles and metal ions[J]. *Environmental Science: Nano*, 2016, 3(1):114-126.
- [18] de la Rosa G, López-Moreno M L, de Haro D, et al. Effects of ZnO nanoparticles in alfalfa, tomato, and cucumber at the germination stage: Root development and X-ray absorption spectroscopy studies [J]. *Pure and Applied Chemistry*, 2013, 85(12):2161-2174.
- [19] Chen J, Dou R, Yang Z, et al. Phytotoxicity and bioaccumulation of zinc oxide nanoparticles in rice (*Oryza Sativa* L.) [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2018, 130:604-612.
- [20] Zhang D, Hua T, Xiao F, et al. Phytotoxicity and bioaccumulation of ZnO nanoparticles in *Schoenoplectus Tabernaemontani*[J]. *Chemosphere*, 2015, 120:211-219.
- [21] Lee W M, Kwak J I, An Y J. Effect of silver nanoparticles in crop plants phaseolus radiatus and sorghum bicolor: Media effect on phytotoxicity[J]. *Chemosphere*, 2012, 86(5):491-499.
- [22] Dwivedi A D, Yoon H, Singh J P, et al. Uptake, distribution, and transformation of zerovalent iron nanoparticles in the edible plant *Cucumis sativus*[J]. *Environmental Science and Technology*, 2018, 52(17):10057-10066.
- [23] 李小康, 胡献刚, 周启星. 碳纳米颗粒诱发植物毒性效应及其机理的研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(11):2041-2047. LI Xiao-kang, HU Xian-gang, ZHOU Qi-xing. Research progress in phytotoxicity of carbon nanoparticles and its mechanisms[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2015, 34(11):2041-2047.
- [24] 王发园. 人工纳米颗粒的植物毒性及其在植物中的吸收和累积 [J]. 生态毒理学报, 2012, 7(2):142-147. WANG Fa-yuan. Phytotoxicity of engineered nanoparticles (ENPs) and their uptake and accumulation in plants[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2012, 7(2):142-147.
- [25] Mirzajani F, Askari H, Hamzelou S, et al. Effect of silver nanoparticles on *Oryza Sativa* L. and its rhizosphere bacteria[J]. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 2013, 88:48-54.
- [26] 吕继涛, 张淑贞. 人工纳米材料与植物的相互作用: 植物毒性、吸收和传输[J]. 化学进展, 2013, 1(1):156-163. LÜ Ji-tao, ZHANG Shu-zhen. Interactions between manufactured nanomaterials and plants: Phytotoxicity, uptake and translocation[J]. *Progress in Chemistry*, 2013, 1(1):156-163.
- [27] Geislerlee J, Brooks M, Gerfen J, et al. Reproductive toxicity and life history study of silver nanoparticle effect, uptake and transport in *Arabidopsis Thaliana*[J]. *Nanomaterials*, 2014, 4(2):301-318.
- [28] Rajput V, Minkina T, Fedorenko A, et al. Toxicity of copper oxide nanoparticles on spring barley (*Hordeum Sativum Distichum*) [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 645:1103-1113.
- [29] Costa M V J D, Sharma P K. Effect of copper oxide nanoparticles on growth, morphology, photosynthesis, and antioxidant response in *Oryza Sativa*[J]. *Photosynthetica*, 2016, 54(1):110-119.
- [30] 张梦如, 杨玉梅, 成蕴秀, 等. 植物活性氧的产生及其作用和危害 [J]. 西北植物学报, 2014, 34(9):1916-1926. ZHANG Meng-ru, YANG Yu-mei, CHENG Yun-xiu, et al. Generation of reactive oxygen species and their functions and deleterious ef-

- fects in plant[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2014, 34(9):1916-1926.
- [31] 杜秀敏, 殷文璇, 赵彦修, 等. 植物中活性氧的产生及清除机制[J]. 生物工程学报, 2001, 17(2):121-125.
- DU Xiu-min, YIN Wen-xuan, ZHAO Yan-xiu, et al. Production and clear mechanism of reactive oxygen species in plants[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2001, 17(2):121-125.
- [32] Priester J H, Moritz S C, Espinosa K, et al. Damage assessment for soybean cultivated in soil with either CeO₂ or ZnO manufactured nanomaterials[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 579:1756-1768.
- [33] Nair P M, Chung I M. Physiological and molecular level effects of silver nanoparticles exposure in rice (*Oryza Sativa* L.) seedlings[J]. *Chemosphere*, 2014, 112:105-113.
- [34] Mukherjee A, Peralta-Videa J R, Bandyopadhyay S, et al. Physiological effects of nanoparticulate ZnO in green peas (*Pisum Sativum* L.) cultivated in soil[J]. *Metallomics*, 2014, 6(1):132-138.
- [35] 徐立娜, 王震宇, 赵建. CuO 纳米颗粒对拟南芥叶片生长及生理特性的影响[J]. 植物生理学报, 2015, 51(6):955-961.
- XU Li-na, WANG Zhen-yu, ZHAO Jian. Effects of CuO nanoparticles on growth and physiological characteristics in leaf of *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Physiology Journal*, 2015, 51(6):955-961.
- [36] 兰丽贞, 赵群芬. 纳米 TiO₂ 在拟南芥中的富集、转运及其对生长和生理的影响[J]. 环境科学学报, 2018, 38(2):837-846.
- LAN Li-zhen, ZHAO Qun-fen. Accumulation, transport of nano TiO₂ and their effects on growth and physiology in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2018, 38(2):837-846.
- [37] Çekiç F Ö, Ekinçi S, İnal M S, et al. Silver nanoparticles induced genotoxicity and oxidative stress in tomato plants[J]. *Turkish Journal of Biology*, 2017, 41:700-707.
- [38] 贾琪, 吴名耀, 梁康迺, 等. 基因组学在作物抗逆性研究中的新进展[J]. 中国生态农业学报, 2014, 22(4):375-385.
- JIA Qi, WU Ming-yao, LIANG Kang-jing, et al. Advances in applications of genomics in stress resistance studies of crops[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2014, 22(4):375-385.
- [39] 江新风, 刘本英, 李友勇, 等. 转录组学在茶树研究中的应用进展[J]. 蚕桑茶叶通讯, 2018(1):26-29.
- JIANG Xin-feng, LIU Ben-ying, LI You-yong, et al. Advances in applications of transcriptomics in studies of tea[J]. *Newsletter of Sericulture and Tea*, 2018(1):26-29.
- [40] 王晓丹, 肖钢, 张振乾, 等. 转录组学和蛋白质组学关联分析在植物研究中的应用[J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(1):432-439.
- WANG Xiao-dan, XIAO Gang, ZHANG Zhen-qian, et al. Application of transcriptomics and proteomics correlation analysis in plant research[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2018, 37(1):432-439.
- [41] Landa P, Vankova R, Androva J. Nanoparticle-specific changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression after exposure to ZnO, TiO₂, and fullerene soot[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 241/242(1):55-62.
- [42] Landa P, Prerostova S, Petrova S, et al. The transcriptomic response of *Arabidopsis thaliana* to zinc oxide: A comparison of the impact of nanoparticle, bulk, and ionic zinc[J]. *Environmental Science and Technology*, 2015, 49(24):14537-14545.
- [43] Kaveh R, Li Y S, Ranjbar S, et al. Changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression in response to silver nanoparticles and silver ions[J]. *Environmental Science and Technology*, 2013, 47(18):10637-10644.
- [44] Landa P, Pytrych D, Prerostova S, et al. Transcriptomic response of *Arabidopsis Thaliana* exposed to CuO nanoparticles, bulk material, and ionic copper[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(18):10814-10824.
- [45] Xun H W, Ma X T, Chen J, et al. Zinc oxide nanoparticle exposure triggers different gene expression patterns in maize shoots and roots[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 229:479-488.
- [46] 谢虹, 杨兰, 李忠光, 等. 脯氨酸在植物非生物胁迫耐性形成中的作用[J]. 生物技术通报, 2011(2):23-27.
- XIE Hong, YANG Lan, LI Zhong-guang, et al. The roles of proline in the formation of plant tolerance to abiotic stress[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2011(2):23-27.
- [47] Zhang Z, Ke M, Qu Q, et al. Impact of copper nanoparticles and ionic copper exposure on wheat (*Triticum aestivum* L.) root morphology and antioxidant response[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 239:689-697.
- [48] Chen C, Unrine J M, Judy J D, et al. Toxicogenomic responses of the model legume *Medicago truncatula* to aged biosolids containing a mixture of nanomaterials (TiO₂, Ag, and ZnO) from a pilot wastewater treatment plant[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(14):8759-8768.
- [49] Jin Y, Fan X, Li X, et al. Distinct physiological and molecular responses in *Arabidopsis thaliana* exposed to aluminum oxide nanoparticles and ionic aluminum[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 228:517-527.
- [50] 孟红恩, 刘忠渊. 植物金属硫蛋白研究进展[J]. 广东农业科学, 2014, 41(15):133-138.
- MENG Hong-en, LIU Zhong-yuan. Research advances of plant metallothioneins[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2014, 41(15):133-138.
- [51] 包珠拉太, 高丽, 王锁民. 植物水通道蛋白及其生理功能[J]. 植物生理学报, 2017, 53(7):1171-1178.
- BAO Zhu-latai, GAO Li, WANG Suo-min. Plant aquaporin and its physiological functions[J]. *Plant Physiology Journal*, 2017, 53(7):1171-1178.
- [52] 金枫, 王翠, 林海建, 等. 植物重金属转运蛋白研究进展[J]. 应用生态学报, 2010, 21(7):1875-1882.
- JIN Feng, WANG Cui, LIN Hai-jian, et al. Heavy metal-transport proteins in plants: A review[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, 21(7):1875-1882.
- [53] Wang S, Kurepa J, Smalle J A. Ultra-Small TiO₂ nanoparticles disrupt microtubular networks in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Cell & Environment*, 2011, 34(5):811-820.
- [54] 金玉, 李赫健, 冯成强. 转录组-代谢组分析方法及其在药物作用机理研究中的应用[J]. 生物技术通报, 2018, 34(12):74-82.
- JIN Yu, LI He-jian, FENG Cheng-qiang. Transcriptome-metabolome

- mics analysis and its application in studying drug action mechanism [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2018, 34(12):74-82.
- [55] 尹 稳, 伏 旭, 李 平. 蛋白质组学的应用研究进展[J]. 生物技术通报, 2014(1):32-38.
- YIN Wen, FU Xu, LI Ping. Application research progress of proteomics[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2014(1):32-38.
- [56] 林晓燕, 牟仁祥, 曹赵云, 等. 镉胁迫下嗜温鞘氨醇杆菌降解丁草胺的蛋白质组学研究[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(12):132-139.
- LIN Xiao-yan, MOU Ren-xiang, CAO Zhao-yun, et al. Proteomics of butachlor-degrading bacterium *Sphingobacterium thalpophilum* under cadmium stress[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(12):2738-2745.
- [57] 高昭辉, 董书伟, 薛慧文, 等. 基因组学和蛋白质组学在纳米药物毒理研究中的应用[J]. 中国奶牛, 2011(24):34-38.
- GAO Zhao-hui, DONG Shu-wei, XUE Hui-wen, et al. Application of genomics and proteomics in nano drug toxicology research[J]. *China Dairy Cattle*, 2011(24):34-38.
- [58] 唐 颖, 高步红, 杨世龙. 基于质谱的差异蛋白质组学技术在植物逆境胁迫研究中的应用[J]. 四川林业科技, 2017, 38(5):28-32.
- TANG Ying, GAO Bu-hong, YANG Shi-long. Application of differential proteomics based on mass spectrometry in the study of plant stress [J]. *Journal of Sichuan Forestry Science and Technology*, 2017, 38(5):28-32.
- [59] Mirzajani F, Askari H, Hamzelou S, et al. Proteomics study of silver nanoparticles toxicity on *Oryza sativa* L. [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2014, 108:335-339.
- [60] Vannini C, Domingo G, Onelli E, et al. Morphological and proteomic responses of *Eruca Sativa* exposed to silver nanoparticles or silver nitrate[J]. *PLoS One*, 2013, 8(7):68752.
- [61] Hara-Nishimura I, Matsushima R. A wound-inducible organelle derived from endoplasmic reticulum: A plant strategy against environmental stresses? [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2003, 6(6):583-588.
- [62] Nagano A J, Akinori M, Ryohei Thomas N, et al. Quantitative analysis of ER Body morphology in an *Arabidopsis* mutant[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2009, 50(12):2015-2022.
- [63] 杨孝丽, 张海龙, 赵潇男, 等. 十字花目植物ER body的形成机制及其生物学功能[J]. 植物生理学报, 2016, 52(4):401-412.
- YANG Xiao-li, ZHANG Hai-long, ZHAO Xiao-nan, et al. Formation mechanism and biological function of ER body of cruciferous plants [J]. *Plant Physiology Journal*, 2016, 52(4):401-412.
- [64] Yasmeen F, Raja N I, Razzaq A, et al. Proteomic and physiological analyses of wheat seeds exposed to copper and iron nanoparticles[J]. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*, 2017, 1865(1):28-42.
- [65] Stefanic P P, Cvjetko P, Biba R, et al. Physiological, ultrastructural and proteomic responses of tobacco seedlings exposed to silver nanoparticles and silver nitrate[J]. *Chemosphere*, 2018, 209:640-653.
- [66] Vannini C, Domingo G, Onelli E, et al. Phytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles exposure on germinating wheat seedlings [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2014, 171(13):1142-1148.
- [67] Salehi H, Chehregani A, Lucini L, et al. Morphological, proteomic and metabolomic insight into the effect of cerium dioxide nanoparticles to *Phaseolus vulgaris* L. under soil or foliar application[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 616/617:1540-1551.
- [68] Galazzi R M, Lopes Junior C A, de Lima T B, et al. Evaluation of some effects on plant metabolism through proteins and enzymes in transgenic and non-transgenic soybeans after cultivation with silver nanoparticles[J]. *Journal of Proteomics*, 2019, 191:88-106.
- [69] Hossain Z, Mustafa G, Sakata K, et al. Insights into the proteomic response of soybean towards Al_2O_3 , ZnO , and Ag nanoparticles stress [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 304:291-305.
- [70] 蒋可人, 马 峥, 郑 航, 等. 转录组与蛋白质组整合分析在生物学研究中的应用[J]. 生物技术通报, 2018, 34(12):50-55.
- JIANG Ke-ren, MA Zheng, ZHENG Hang, et al. Review on the application of integrated transcriptome and proteome analysis in biology[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2018, 34(12):50-55.
- [71] 汪思媛, 赵星阳, 徐玮蔚, 等. 基于质谱技术的细胞代谢组学研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2017, 39(8):1130-1134.
- WANG Si-yuan, ZHAO Xing-yang, XU Wei-wei, et al. Advances in cell metabolomics based on mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2017, 39(8):1130-1134.
- [72] 赵 丹, 刘鹏飞, 潘 超, 等. 生态代谢组学研究进展[J]. 生态学报, 2015, 35(15):4958-4967.
- ZHAO Dan, LIU Peng-fei, PAN Chao, et al. Advances in ecometabolomics[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(15):4958-4967.
- [73] Luo Q, Sun L N, Wang H, et al. Metabolic profiling analysis of root exudates from the Cd hyperaccumulator *Sedum alfredii* under different Cd exposure concentrations and times[J]. *Analytical Methods*, 2015, 7(9):3793-3800.
- [74] 范仕成, 高 悦, 张慧贞, 等. 非靶向和靶向代谢组学在药物靶点发现中的应用[J]. 药学进展, 2017, 41(4):263-269.
- FAN Shi-cheng, GAO Yue, ZHANG Hui-zhen, et al. Untargeted and targeted metabolomics and their applications in discovering drug targets[J]. *Progress in Pharmaceutical Sciences*, 2017, 41(4):263-269.
- [75] 张凡忠, 刘小红, 章初龙, 等. 植物响应病原真菌的代谢组学研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2016, 38(4):434-440.
- ZHANG Fan-zhong, LIU Xiao-hong, ZHANG Chu-long, et al. Progresses of metabolomics in plants response to plant pathogenic fungi [J]. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2016, 38(4):434-440.
- [76] An L, Ma J, Wang H, et al. NMR-based global metabolomics approach to decipher the metabolic effects of three plant growth regulators on strawberry maturation[J]. *Food Chemistry*, 2018, 269:559-566.
- [77] 肖媛媛, 李海波, 李英华, 等. 微生物代谢组学及其在土壤环境中的研究进展[J]. 微生物前沿, 2017, 6(4):116-123.
- XIAO Yuan-yuan, LI Hai-bo, LI Ying-hua, et al. A review of microbial metabolomics in soil environment research[J]. *Advances in Microbiology*, 2017, 6(4):116-123.
- [78] Zhang H, Du W, Peralta-Videa J R, et al. Metabolomics reveals how cucumber (*Cucumis sativus*) reprograms metabolites to cope with silver ions and silver nanoparticle-induced oxidative stress[J]. *Environmental Science and Technology*, 2018, 52(14):8016-8026.

- [79] Huang Y, Adeleye A S, Zhao L, et al. Antioxidant response of cucumber (*Cucumis sativus*) exposed to nano copper pesticide: Quantitative determination via LC-MS/MS[J]. *Food Chemistry*, 2019, 270:47-52.
- [80] Zhao L, Huang Y, Zhou H, et al. GC-TOF-MS based metabolomics and ICP-MS based metallomics of cucumber (*Cucumis sativus*) fruits reveal alteration of metabolites profile and biological pathway disruption induced by nano copper[J]. *Environmental Science: Nano*, 2016, 3(5):1114-1123.
- [81] Zhao L, Huang Y, Hu J, et al. ¹H NMR and GC-MS based metabolomics reveal defense and detoxification mechanism of cucumber plant under nano-Cu stress[J]. *Environmental Science and Technology*, 2016, 50(4):2000-2010.
- [82] Wu B, Zhu L, Le X C. Metabolomics analysis of TiO₂ nanoparticles induced toxicological effects on rice (*Oryza Sativa* L.)[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 230:302-310.
- [83] Zhao L, Hu J, Huang Y, et al. ¹H NMR and GC-MS based metabolomics reveal nano-Cu altered cucumber (*Cucumis sativus*) fruit nutritional supply[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2017, 110:138-146.
- [84] Ke M, Qu Q, Peijnenburg W, et al. Phytotoxic effects of silver nanoparticles and silver ions to *Arabidopsis thaliana* as revealed by analysis of molecular responses and of metabolic pathways[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 644:1070-1079.
- [85] Huang Y, Li W, Minakova A S, et al. Quantitative analysis of changes in amino acids levels for cucumber (*Cucumis sativus*) exposed to nano copper[J]. *NanoImpact*, 2018, 12:9-17.
- [86] Arruda S C, Silva A L, Galazzi R M, et al. Nanoparticles applied to plant science: A review[J]. *Talanta*, 2015, 131:693-705.
- [87] Conway J R, Beaulieu A L, Beaulieu N L, et al. Environmental stresses increase photosynthetic disruption by metal oxide nanomaterials in a soil-grown plant[J]. *Acs Nano*, 2015, 9(12):11737-11749.
- [88] Du W, Sun Y, Ji R, et al. TiO₂ and ZnO nanoparticles negatively affect wheat growth and soil enzyme activities in agricultural soil[J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2011, 13(4):822-828.
- [89] Das R K, Brar S K, Verma M. Checking the biocompatibility of plant-derived metallic nanoparticles: Molecular perspectives[J]. *Trends in Biotechnology*, 2016, 34(6):440-449.
- [90] Reddy P V L, Adisa I O, Rawat S, et al. Finding the conditions for the beneficial use of ZnO nanoparticles towards plants: A review[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 241:1175-1181.
- [91] Mubarakali D, Arunkumar J, Pooja P, et al. Synthesis and characterization of biocompatibility of tenorite nanoparticles and potential property against biofilm formation[J]. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2015, 23(4):421-428.
- [92] Yan A, Chen Z. Impacts of silver nanoparticles on plants: A focus on the phytotoxicity and underlying mechanism[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(5). doi:10.3390/ijms2005/003.
- [93] Küpper H, Küpper F, Spiller M. Environmental relevance of heavy metal-substituted chlorophylls using the example of water plants[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1996, 47(295):259-266.
- [94] Kovacic P, Somanathan R. Biomechanisms of nanoparticles (toxicants, antioxidants and therapeutics): Electron transfer and reactive oxygen species[J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2010, 10(12):7919-7930.
- [95] Chen H. Metal based nanoparticles in agricultural system: Behavior, transport, and interaction with plants[J]. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 2018(12):1-12.
- [96] Dev A, Srivastava A K, Karmakar S. Nanomaterial toxicity for plants [J]. *Environmental Chemistry Letters*, 2017, 16(1):85-100.
- [97] 张俊霞, 刘晓鹏, 向极钎. 植物抗氧化系统对逆境胁迫的动态响应[J]. 湖北民族学院学报(自然科学版), 2015, 33(4):435-439.
- ZHANG Jun-xia, LIU Xiao-peng, XIANG Ji-qian. Dynamic response of antioxidant systems to adversity stress in plants[J]. *Journal of Hubei University for Nationalities (Natural Science Edition)*, 2015, 33(4):435-439.
- [98] 孙 锦, 贾永霞, 郭世荣, 等. 海水胁迫对菠菜 (*Spinacia oleracea* L.) 叶绿体活性氧和叶绿素代谢的影响[J]. 生态学报, 2009, 29(8):4361-4371.
- SUN Jin, JIA Yong-xia, GUO Shi-rong, et al. Effects of seawater stress on metabolism of reactive oxygen species and chlorophyll in chloroplasts of spinach (*Spinacia oleracea* L.) [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(8):4361-4371.