

纳米氧化钛颗粒对镉胁迫下玉米生长受抑的缓解效应

陈建伟, 余海娟, 李亮, 秦梦洁, 江淼, 谭明谱*

南京农业大学生命科学学院, 南京210095

摘要: 镉(cadmium, Cd)被认为是最具毒性的重金属污染物之一, 很容易被农作物通过根部吸收进入植物体, 进而在食物链中迁移, 不仅会影响作物的质量和产量, 还会对人类健康造成巨大的威胁。本研究采用营养液水培的方法, 以玉米‘农大108’为供试材料, 通过检测玉米体内超氧化物歧化酶(SOD)活性、重金属Cd含量、株高和根长的变化以及根尖染色, 研究纳米氧化钛颗粒(TiO₂-NPs)对Cd胁迫下玉米的缓解效应及机制。结果表明, 与Cd胁迫处理相比, 添加TiO₂-NPs后能明显提高玉米株高、根长以及最大光能转化效率(F_v/F_m), 同时缓解玉米根尖细胞损伤。Cd胁迫能显著诱导叶片SOD, 而TiO₂+Cd减缓了SOD的增长幅度; 通过测定各种处理下Cd的含量, 发现TiO₂+Cd和ZnO+Cd均使植物根系对Cd的吸收降低, 但并不降低Cd向叶片的迁移, 而且ZnO+Cd还使叶片的Cd含量增加, 可能加剧了Cd由根向叶的转移, 表明TiO₂-NPs可以降低Cd的生物毒性, 减缓过多的Cd对玉米生长的抑制作用。

关键词: 玉米; 镉; 胁迫; 纳米氧化钛颗粒

Titanium Oxide Nanoparticles Alleviate Growth Inhibition of Maize under Cadmium Stress

CHEN Jian-Wei, YU Hai-Juan, LI Liang, QIN Meng-Jie, JIANG Miao, TAN Ming-Pu*

College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

Abstract: Cadmium (Cd) is considered one of the most toxic heavy metal pollutants, and can be easily absorbed through the roots into the plant, and then migrates in the food chain. Consequently, Cd can not only affect the quality and yield of crops, but also cause a great threat to human health. In this study, the plant height and root length of maize ‘Nongda108’ in the hydroponic solution containing titanium oxide nanoparticles (TiO₂-NPs) supplied with Cd were measured. The changes in the activity of superoxide dismutase (SOD), plant heights, root lengths and apical staining were detected to study the effects and the mechanism of TiO₂ nanoparticles (TiO₂-NPs) on the alleviation of cadmium stress on maize seedlings. The results show that plant heights, root lengths and F_v/F_m were significantly improved, whereas the damage of maize root tip was significantly decreased using the TiO₂-NPs pretreatment, compared to Cd stress. Furthermore, Cd stress can significantly induce the activity of SOD in leaves, but the magnitude of changes of SOD is decreased in the TiO₂-NPs pretreated sample. The Cd content measured at various treatments indicated that the Cd absorption in roots was decreased under TiO₂+Cd and ZnO+Cd treatments, but the Cd migration to leaves did not reduce by TiO₂+Cd or ZnO+Cd treatment, whereas the Cd content in leaves was increased by ZnO+Cd treatment, which may exacerbate the Cd transfer from roots to leaves. These results suggest that TiO₂-NPs could reduce the biological toxicity of Cd, thus alleviate the inhibitory effect of Cd on maize.

Key words: maize (*Zea mays*); cadmium; stress; titanium oxide nanoparticles

在植物中, Cd不是生长发育所必需的, 但在土壤中化学活性较强, 因而很容易被植物吸收, 在食物链中迁移(Rejeb等2013), 影响作物的质量、产量以及食品安全。因此, 研究缓解Cd胁迫的物质对农业生产和环境治理具有重要意义。

在不同植物的研究中发现, Cd对植物具有强烈的毒性并导致生长抑制, 浓度高时甚至导致植株死亡(Arasimowicz-Jelonek等2012)。Cd²⁺进入植

物体内后会破坏植物体内蛋白和酶的活性, 引起植物生理代谢紊乱; 造成细胞内活性氧的积累, 诱发氧化胁迫; 竞争其他金属离子的吸收, 打破植物体内金属离子原有的平衡等(Cobbett和Golds-

收稿 2015-07-30 修定 2015-10-09

资助 国家自然科学基金(31271421)。

* 通讯作者(E-mail: tempo@njau.edu.cn; Tel: 025-84396372)。

brough 2002)。植物被Cd毒害后, 往往最直观的表现就是植株矮小, 叶片发黄并出现坏死斑, 这是由于Cd破坏了植物叶绿素结构, 导致植物叶片的叶绿素含量下降(Krantev等2008)。宇克莉等(2010)通过观察Cd胁迫下玉米幼苗细胞超微结构发现, 当 Cd^{2+} 浓度达到 $10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 水平时, 幼苗叶绿素含量均明显降低, 叶绿体膨大, 类囊体排列不规则, 根细胞的膜系统被严重破坏。由于光合作用受到破坏, 植物根系生长受到抑制, 其形态也发生改变, 植物的生物量明显下降(DalCorso等2010; Lin和Aaers 2012)。

纳米材料在植物中的作用已有报道, 如其在植物体的吸收和转运(Wang等2013), 对植物种子萌发(Lin等2007)以及幼苗生长(Song等2013)的影响。近年来一些研究表明, 纳米氧化钛颗粒(TiO_2 -NPs)能够调节植物的生长发育, 如 TiO_2 -NPs可以促进菠菜的氮代谢(Yang等2006), 促进绿豆下胚轴插条生根(涂庆华等2005), 促进豆类种子萌发和幼苗生长(陆长梅等2002), 提高菠菜光合效率以及产量(Zheng等2005), 提高植物光合性能(Hong等2005; Su等2007), 提高抗氧化防护酶如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)的活性(Hong等2005), 抑制番茄幼苗的发芽率、根长和生物量(Frazier等2013)等。

Yang等(2012a, b)研究了绿藻中 TiO_2 -NPs和混和物 TiO_2 -BC (TiO_2 -NPs与竹炭复合材料)对Cd的生物有效性的作用。研究发现在大多数 Cd^{2+} 浓度处理下, TiO_2 -BC对 Cd^{2+} 吸附高于 TiO_2 -NPs, 而这两种形式的 TiO_2 均能够缓解 Cd^{2+} 对衣藻的抑制作用, 可能是通过降低其周围自由离子的浓度和进一步降低其细胞内积累和毒性。但在玉米中 TiO_2 处理能否增加对Cd胁迫的抗性尚未有报道。

本研究以玉米‘农大108’为实验材料, 研究Cd胁迫下 TiO_2 处理能否提高植物对Cd胁迫的抗性, 以为缓解Cd污染造成的毒害作用提供一定的材料和理论依据, 也为农业生产上提高玉米作物抗重金属的栽培措施提供一种途径。

材料与amp;方法

1 材料与试剂

供试玉米品种: ‘农大108’。培养液为Hoagland营养液, 组成为: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 、 KNO_3 、 NH_4NO_3 、

KH_2PO_4 、 MgSO_4 、铁盐以及微量元素, 以上试剂均为分析纯, 用蒸馏水配制适宜浓度待用。 TiO_2 购自上海跃江钛白化工制品有限公司(锐钛型, 颗粒粒径 $>80 \text{ nm}$)。

2 实验设计

2.1 TiO_2 和Cd胁迫等处理

选取均一饱满的种子, 将其浸泡在清水中过夜12 h, 在光照培养箱中催芽48 h, 挑选发芽一致、既有根又有芽的种子播种于营养液中, 于 $28 \text{ }^\circ\text{C}/22 \text{ }^\circ\text{C}$ (昼/夜)、相对湿度75%、光照强度 $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、光周期14 h/10 h (昼/夜)的培养箱中培养, 到第2片叶完全展开时开始进行Cd处理。

参照王爽等(2007)的方法配制 TiO_2 -NPs悬浊液: 称取适量的 TiO_2 -NPs, 加入无菌磷酸缓冲液($0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 7.0), 超声波振荡30 min使 TiO_2 -NPs均一地分散于液体中。

参照窦巧惠等(2015)方法, 试验设6个处理, 均为其他试剂预处理4 h后再用 CdCl_2 处理: (1)完全营养液(对照); (2) $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ CdCl}_2$ (Cd); (3) $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ CdCl}_2+200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ TiO}_2$ (Cd+ TiO_2); (4) $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ TiO}_2$ (TiO_2); (5) $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ CdCl}_2+481 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ TiCl}_4$ (Cd+ TiCl_4); (6) $481 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ TiCl}_4$ (TiCl_4)。每个处理3次重复, 温室内随机排列。处理至第3片叶子完全展开, 观察记录相关实验数据, 测量株高和根长。

2.2 生理指标的测定

2.2.1 根尖染色

切取上述的玉米苗根尖1 cm左右, 在切取过程中避免对根尖造成损伤。参照Baker等(1994)的方法, 将切好的根尖浸于0.25%的伊文斯蓝(Evans blue)试剂中, 室温下染色10 min, 双蒸水清洗至无蓝色洗出。将根尖置于体视显微镜下观察并拍照。参照白宝璋等(1994)的方法, 用1%的TTC溶液染色根尖。

2.2.2 叶绿素荧光测定

参照Xia等(2009)和Jiang等(2012)方法, 选取第3片叶完全展开并且生长一致的玉米植株分别用完全营养液、Cd、Cd+ TiO_2 、 TiO_2 、Cd+ TiCl_4 和 TiCl_4 处理后将植物放入黑暗中避光30 min, 然后用叶绿素荧光分析仪测定植物叶绿素荧光, 记录 F_v/F_m 。

2.2.3 重金属含量测定

参照的李鹏等(2011)的方法, 称取0.5 g玉米根

系、叶片等组织干样,先用浓 HNO_3 消解,再用ICP-OES电感耦合等离子体发射光谱仪(PerkinElmer Optima 2100DV)测定样品中的Cd含量。

2.2.4 SOD活力测定

参照张永平等(2014)和徐立娜等(2015)的方法, SOD的测定采用氮蓝四唑NBT光化还原法。

2.3 实验数据的处理

采用GraphPad Prism 5软件对数据进行处理及绘图,采用SPSS 17.0统计软件对平均数用LSD检验法进行方差分析。

实验结果

1 TiO_2 缓解Cd胁迫对玉米幼苗生长的抑制

Cd处理会使玉米株高和根长明显减小, TiO_2 +Cd处理后玉米株高和根长均显著高于Cd处理, 但 TiCl_4 +Cd处理后, 玉米根长相对于Cd处理无显著变化, 株高显著高于Cd处理, 作用没有 TiO_2 +Cd处理明显(图1)。由此可见, TiO_2 可以缓解Cd胁迫对玉米植株的毒害作用。结合图2表型, 可以看出 TiO_2 对Cd胁迫引起的玉米株高和根长减小具有缓

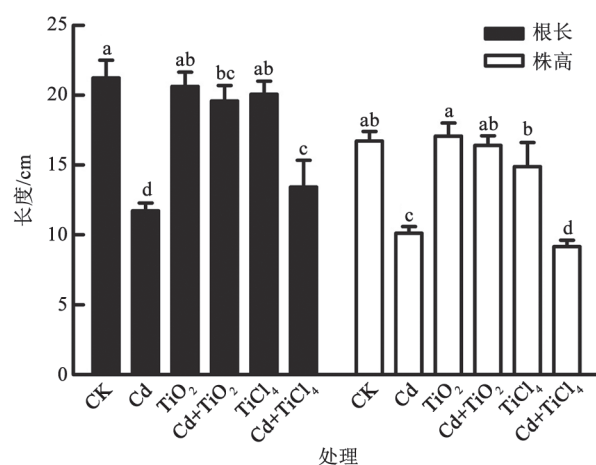


图1 TiO_2 对Cd胁迫下玉米根长和株高的影响

Fig.1 Effect of TiO_2 on maize plant heights and root lengths under Cd stress

同一测定项目柱形上不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。图4同。

解作用。

2 TiO_2 对Cd胁迫下玉米根尖的影响

伊文斯蓝是一种检测细胞死活的染料,不能透过活细胞的完整细胞膜,而当细胞死亡时能够渗透到细胞内,从而使细胞染成蓝色。与对照相

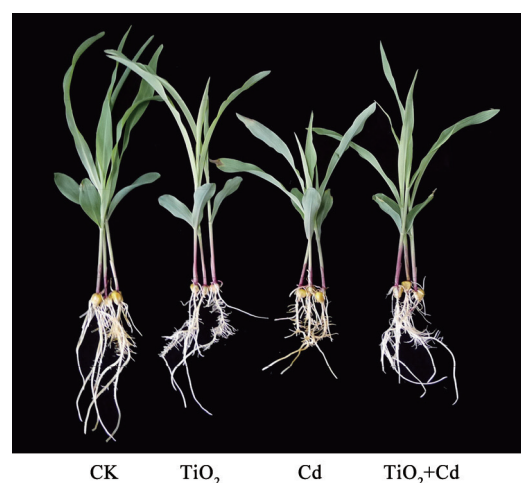


图2 TiO_2 对Cd胁迫下玉米植株生长的影响

Fig.2 Effect of TiO_2 on the growth of maize plants under Cd stress

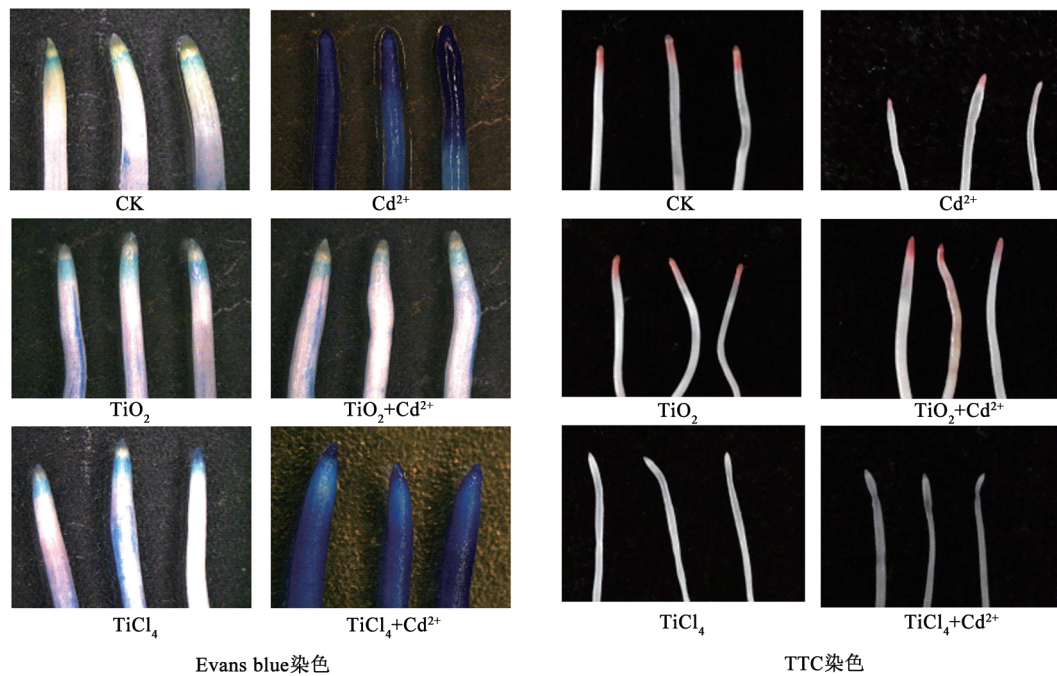
比, Cd处理后玉米根部细胞损伤比较严重, 分别用 TiO_2 -NPs和 TiCl_4 处理对玉米根部损伤没有明显变化。与Cd处理相比, TiO_2 +Cd处理后玉米根部损伤明显减弱, 但 TiCl_4 +Cd处理对根部损伤没有明显缓解作用(图3), 由此可以发现 TiO_2 对Cd胁迫产生的根尖损伤有缓解作用, 而不是钛离子。TTC染色的有活力的根尖实验结果也表明, TiO_2 -NPs维系了Cd胁迫下根尖的活力(图3)。

3 TiO_2 降低了玉米对Cd的吸收

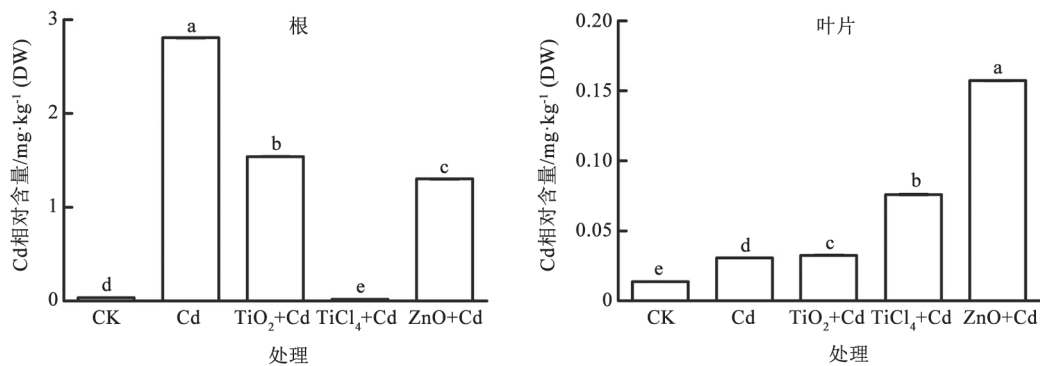
为了研究 TiO_2 -NPs缓解Cd胁迫的原因, 同时探究不同纳米材料在降低Cd毒性上的通用性, 测定了各种处理的Cd含量, 发现 TiO_2 +Cd和ZnO+Cd均降低了植物根系对Cd的吸收, 但并不降低Cd向叶片的迁移, 而且ZnO+Cd还增加了叶片的Cd含量, 可能加剧了Cd由根向叶的转移(图4)。

4 TiO_2 对Cd胁迫下玉米叶片光合作用及抗氧化防护酶活性的影响

F_v/F_m 代表最大光能转化效率, 可以表示叶片的光合效率(Juneau等2001)。以完全营养液为对照组, Cd、Cd+ TiO_2 、 TiO_2 、Cd+ TiCl_4 和 TiCl_4 处理前, 玉米叶片 F_v/F_m 值相对平稳, 说明处理前叶片光合效率基本一致。Cd处理后, 玉米叶片光和效率明显下降。Cd+ TiO_2 处理后, 叶片光合效率与对照相比无明显变化, Cd+ TiCl_4 处理后叶片光合效率仍有所下降。由此可见 TiO_2 处理可以缓解Cd处理引起的叶片损伤(图5)。

图3 TiO_2 对Cd胁迫下玉米根尖活力的影响Fig.3 Effect of TiO_2 on the vitalities of maize root tips under Cd stress

左图蓝色为染料伊文斯蓝(Evans blue)染色的根尖死细胞,右图红色为TTC染色有活力的根尖。

图4 TiO_2 -NPs对Cd胁迫下玉米根系和叶片中Cd含量的影响Fig.4 Effect of TiO_2 -NPs on the contents of Cd in maize roots and leaves under Cd stress

同时本研究测定了各处理条件下的抗氧化防护酶的活性,结果表明Cd强烈诱导了叶片SOD,而 TiO_2 +Cd减缓了SOD的增长幅度。

讨 论

植物对重金属的耐受与其吸收、转运、分配以及结合形态等有关。Cd首先通过根进入植物体内,然后向地上部运输,因此,当Cd对植物产生毒害作用时,首先会表现在根部的形态和生理功能

的改变上(王一喆等2008)。已有研究表明,Cd毒害可显著抑制植物胚轴和胚根的伸长(He等2010; Sfaxi-Bousbih等2010)。Cd处理会抑制植物根的生长,使植物侧根短小,根尖细胞老化甚至死亡,根尖变褐或变黑(刘文胜等2010)。

本研究的结果表明,在 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ CdCl_2 处理下玉米株高和根长均显著减小(图2)。伊文斯蓝染色发现, $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ CdCl_2 处理后,玉米根部染色程度较深,说明玉米根部细胞受到了严重损

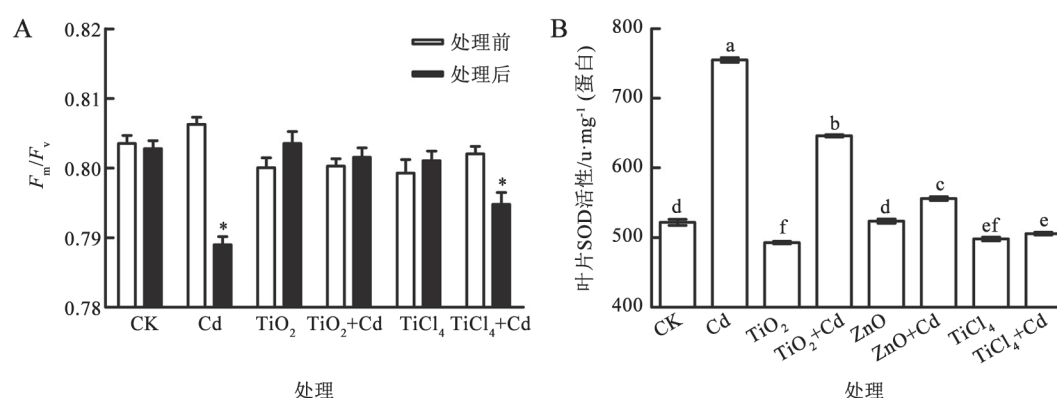
图5 TiO₂对Cd胁迫下玉米叶绿素荧光和抗氧化防护酶SOD活性的影响

Fig.5 Effect of TiO₂ on the chlorophyll fluorescence and the activity of antioxidant SOD in maize under Cd stress

A图柱形上“*”表示预处理后差异显著($P < 0.05$); B图各柱形上不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

伤。用TiO₂+Cd处理后玉米根尖染色程度较弱,与对照相比无明显区别,说明在Cd处理同时加入TiO₂后由Cd处理引起的玉米根部损伤明显减弱。但TiCl₄+Cd处理后,玉米根尖染色程度与单独用Cd处理无明显区别,这说明TiCl₄对Cd处理引起的根部损伤没有明显缓解作用,由此可以发现TiO₂对Cd胁迫产生的根尖损伤有缓解作用(图3)。TTC根尖染色结果也表明, TiO₂-NPs维系了Cd胁迫下根尖的活力。

植物根系吸收的重金属Cd可以向上运输到地上部,纳米粒子也可以在植物中长距离转运。Wang等(2012)报道了纳米颗粒CuO-NPs在玉米中的运输以及重新分配。通过透射电子显微镜(TEM)和能量色散谱仪(EDS)检测发现CuO-NPs存在于木质部汁液中,这表明CuO-NPs能够通过木质部从根运输到芽。分根实验和高分辨率的TEM进一步观察发现, CuO-NPs还可以从芽通过韧皮部转移回根部。徐立娜等(2015)发现拟南芥叶片在CuO-NPs悬浮液处理后,抗氧化防护酶如SOD、POD、CAT以及抗坏血酸过氧化物酶(APX)的活性提高。

纳米材料可促进大豆体内自由基清除系统的旺盛代谢,增强植物的抗逆能力,最终促进植物的生长发育(陆长梅等2002)。已有研究发现TiO₂能明显促进植物光能的吸收分配、光电转换、光合放氧及光合磷酸化,提高植物光合性能(Su等2009)。王震宇等(2010)研究了纳米TiO₂等对玉米幼苗抗氧化酶活性的影响,发现在纳米材料悬浮

液培养后植物组织中SOD、CAT活性和POD活性均显著升高。TiO₂处理能够提高抗氧化防护酶SOD、POD、CAT等的活性(Hong等2005)。

Cd离子会破坏植物体内蛋白和酶的活性,造成细胞质内活性氧的积累,诱发氧化胁迫,破坏膜的结构,从而抑制植物的生长。由于叶绿素含量下降植物的叶片颜色变淡,光合作用受到破坏,植物的生物量明显下降,重金属浓度过高时甚至导致植株死亡。Yang等(2012a, b)研究发现, TiO₂-BC对Cd²⁺吸附高于TiO₂-NPs,而这2种形式的TiO₂均能够缓解Cd²⁺对衣藻的抑制作用,可能是通过降低其周围自由离子的浓度和进一步降低其细胞内积累和毒性。

纳米ZnO处理效果不如TiO₂类纳米材料,可能的原因是纳米金属的生物毒性效应差异很大,纳米ZnO的生物毒性大于TiO₂-NPs。溶解度大的ZnO和FeO比溶解度小的CeO₂和TiO₂表现出更大的急性毒性,纳米ZnO的毒性不仅来自其溶解的离子,同时也有纳米颗粒自身的作用(吕继涛和张淑贞2013; 杨新萍和赵方杰2013)。在本研究中发现,尽管TiO₂+Cd和ZnO+Cd均降低了植物根系对Cd的吸收,但并不降低Cd向地上部叶片的迁移,而且ZnO+Cd还增加了叶片的Cd含量,可能加剧了Cd由根向叶的转移(图4)。伊文斯蓝和TTC根尖染色的结果表明,纳米ZnO缓解Cd胁迫抑制根尖活力的效果不如TiO₂-NPs(结果未列出)。再结合纳米ZnO和Cd联合处理玉米的植株表型,纳米ZnO缓解Cd胁迫抑制生长的效果不如TiO₂-NPs(结果未列

出)。因而,本研究的结果暗示了仅TiO₂-NPs是缓解Cd胁迫的理想纳米材料, TiO₂-NPs缓解Cd胁迫可能是因为TiO₂降低了玉米植株对Cd的吸收,降低玉米组织中Cd的浓度,从而降低Cd对玉米的毒性。

在本研究中, Cd处理后, 玉米叶片光合效率明显下降。Cd+TiO₂处理后, 叶片光合效率与对照相比无明显变化, Cd+TiCl₄处理后叶片光合效率仍有所下降, 由此可见TiO₂处理可以缓解Cd处理引起的光合抑制(图5), 进而缓解Cd处理引起的生长抑制(图2)。另一方面, Cd胁迫能显著诱导叶片SOD, 而TiO₂+Cd减缓了SOD的增长幅度。这表明, TiO₂可能是通过调节玉米植株中抗氧化防御酶如SOD的活性以避免活性氧如H₂O₂的积累, 从而减轻Cd的毒害作用。

参考文献

- 白宝璋, 金锦子, 白崧, 黄丽萍(1994). 玉米根系活力TTC测定法的改良. 玉米科学, 2 (4): 44~47
- 窦巧惠, 王娟, 尹博, 梁国鹏, 崔秀敏(2015). 外源油菜素内酯(EBR)对Cu胁迫期间番茄幼苗的缓解效应. 植物生理学报, 51 (3): 287~294
- 李鹏, 葛滢, 吴龙华, 沈丽波, 谭维娜, 骆永明(2011). 两种籽粒镉含量不同水稻的镉吸收转运及其生理效应差异初探. 中国水稻科学, 25 (3): 291~296
- 刘文胜, 周婵, 郭盘江, 李世友, 于洋(2010). 镉对玉米种子萌发及胚生长的影响. 湖北农业科学, 49 (4): 842~844
- 陆长梅, 张超英, 温俊强, 吴国荣, 陶明焯(2002). 纳米材料促进大豆萌芽、生长的影响及其机理研究. 大豆科学, 21 (3): 168~171
- 吕继涛, 张淑贞(2013). 人工纳米材料与植物的相互作用: 植物毒性、吸收和传输. 化学进展, 25 (1): 156~163
- 涂庆华, 李娘辉, 李玲, 熊予莹(2005). 纳米化的二氧化钛促进绿豆下胚轴不定根形成. 植物生理学通讯, 41 (3): 313~315
- 王爽, 常立艳, 王琦, 梅汝鸿(2007). 纳米二氧化钛对植物有益蜡芽孢杆菌存活能力的影响. 微生物学杂志, 27 (5): 102~105
- 王一喆, 王强(2008). 镉对植物根系的毒害作用. 广东微量元素科学, 15 (4): 1~5
- 王震宇, 于晓莉, 高冬梅, 封文强, 邢宝山, 李锋民(2010). 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
- 徐立娜, 王震宇, 赵建(2015). CuO纳米颗粒对拟南芥叶片生长及生理特性的影响. 植物生理学报, 51 (6): 955~961
- 杨新萍, 赵方杰(2013). 植物对纳米颗粒的吸收、转运及毒性效应. 环境科学, 34 (11): 4495~4502
- 字克莉, 孟庆敏, 邹金华(2010). 镉对玉米幼苗生长、叶绿素含量及细胞超微结构的影响. 华北农学报, 25 (3): 118~123
- 张永平, 范红伟, 杨少军, 陈幼源(2014). 外源水杨酸对镉胁迫下甜瓜幼苗生长、光合作用和活性氧代谢的缓解效应. 植物生理学报, 50 (10): 1555~1562
- Arasimowicz-Jelonek M, Floryszak-Wieczorek J, Deckert J, Rucińska-Sobkowiak R, Gzyl J, Pawlak-Sprada S, Abramowski D, Jelonek T, Gwóźdz EA (2012). Nitric oxide implication in cadmium induced programmed cell death in roots and signaling response of yellow lupine plants. *Plant Physiol Biochem*, 58: 124~134
- Baker CJ, Mock NM (1994). An improved method for monitoring cell death in cell suspension and leaf disc assays using evans blue. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 39 (1): 7~12
- Cobbett C, Goldsbrough P (2002). Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annu Rev Plant Biol*, 53 (1): 159~182
- DalCorso G, Farinati S, Furin A (2010). Regulatory networks of cadmium stress in plants. *Plant Signal Behav*, 5 (6): 663~667
- Frazier TP, Burklew CE, Zhang B (2013). Titanium dioxide nanoparticles affect the growth and microRNA expression of tobacco (*Nicotiana tabacum*). *Funct Integr Genomics*, 14 (1): 75~83
- He J, Ren Y, Pan X, Yan Y, Zhu C, Jiang D (2010). Salicylic acid alleviates the toxicity effect of cadmium on germination, seedling growth, and amylase activity of rice. *J Plant Nutr Soil Sci*, 173 (2): 300~305
- Hong F, Yang F, Liu C, Gao Q, Wan Z, Gu F, Wu C, Ma Z, Zhou J, Yang P (2005). Influences of nano-TiO₂ on the chloroplast aging of spinach under light. *Biol Trace Elem Res*, 104 (3): 249~260
- Jiang YP, Cheng F, Zhou YH, Xia XJ, Shi K, Yu JQ (2012). Interactive effects of CO₂ enrichment and brassinosteroid on CO₂ assimilation and photosynthetic electron transport in *Cucumis sativus*. *Environ Exp Bot*, 75 (4): 98~106
- Juneau P, Dewez D, Matsui S, Kim SG, Popovic R (2001). Evaluation of different algal species sensitivity to mercury and metolachlor by PAM-fluorometry. *Chemosphere*, 45 (4-5): 589~598
- Krantev A, Yordanova R, Janda T, Szalai G, Popova L (2008). Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. *J Plant Physiol*, 165 (9): 920~931
- Lin D, Xing B (2007). Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environ Pollut*, 150 (2): 243~250
- Lin YF, Aarts MGM (2012). The molecular mechanism of zinc and cadmium stress response in plants. *Cell Mol Life Sci*, 69 (19): 3187~3206
- Rejeb KB, Ghnaya T, Zaier H, Benzarti M, Baioui R, Ghabriche R, Wali M, Lutts S, Abdely C (2013). Evaluation of the Cd²⁺ phytoextraction potential in the xerohalophyte *Salsola kali* L. and the impact of EDTA on this process. *Ecol Eng*, 60 (11): 309~315
- Sfafi-Bousbih A, Chaoui A, El Ferjani E (2010). Cadmium impairs mineral and carbohydrate mobilization during the germination of bean seeds. *Ecotoxicol Environ Saf*, 73 (6): 1123~1129
- Song U, Shin M, Lee G, Roh J, Kim Y, Lee EJ (2013). Functional analysis of TiO₂ nanoparticle toxicity in three plant species. *Bio Trace Elem Res*, 155 (1): 93~103
- Su M, Hong F, Liu C, Wu X, Liu X, Chen L, Gao F, Yang F, Li Z (2007). Effects of nano-anatase TiO₂ on absorption, distribution of light and photochemical activities of chloroplast of spinach. *Biol Trace Elem Res*, 118 (2): 120~130

- Su M, Wu X, Liu C, Qu C, Liu X, Chen L, Huang H, Hong F (2009). Promotion of energy transfer and oxygen evolution in spinach photosystem II by nano-anatase TiO₂. *Biol Trace Elem Res*, 119 (2): 183~192
- Wang Q, Ebbs SD, Chen Y, Ma X (2013). Trans-generational impact of cerium oxide nanoparticles on tomato plants. *Metallomics*, 5 (6): 753~759
- Wang Z, Xie X, Zhao J, Liu X, Feng W, White JC, Xing B (2012). Xylem- and phloem-based transport of CuO nanoparticles in maize (*Zea mays* L.). *Environ Sci Technol*, 46 (8): 4434~4441
- Xia XJ, Zhang Y, Wu JX, Wang JT, Zhou YH, Shi K, Yu YL, Yu JQ (2009). Brassinosteroids promote metabolism of pesticides in cucumber. *J Agric Food Chem*, 57 (1): 8406~8413
- Yang F, Hong F, You W, Liu C, Gao F, Wu C, Yang P (2006). Influences of nano-anatase TiO₂ on the nitrogen metabolism of growing spinach. *Biol Trace Elem Res*, 110 (2): 179~190
- Yang WW, Li Y, Miao AJ, Yang LY (2012a). Cd²⁺ toxicity as affected by bare TiO₂ nanoparticles and their bulk counterpart. *Ecotoxicol Environ Saf*, 85 (3): 44~51
- Yang WW, Miao AJ, Yang LY (2012b). Cd²⁺ Toxicity to a green alga *Chlamydomonas reinhardtii* as influenced by its adsorption on TiO₂ engineered nanoparticles. *PLoS ONE*, 7 (3): e32300
- Zheng L, Hong F, Lu S, Liu C (2005). Effect of nano-TiO₂ on strength of naturally aged seeds and growth of spinach. *Biol Trace Elem Res*, 104 (1): 83~91