

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20200911002

徐蓉蓉, 高静, 魏思敏, 等. 纳米银对蒙古黄芪种子和幼苗的毒性研究与数据挖掘分析[J]. 生态毒理学报, 2021, 16(5): 301-313

Xu R R, Gao J, Wei S M, et al. Phytotoxicity of AgNPs on *Astragalus mongholicus* seeds and seedlings and data mining analysis [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2021, 16(5): 301-313 (in Chinese)

纳米银对蒙古黄芪种子和幼苗的毒性研究与数据挖掘分析

徐蓉蓉^{1,2}, 高静², 魏思敏¹, 关思静², 葛甜甜², 王楠^{1,*}, 唐志书¹, 宋忠兴¹

1. 陕西中医药大学陕西中药资源产业化省部共建协同创新中心, 咸阳 712083

2. 陕西中医药大学药学院, 咸阳 712046

收稿日期: 2020-09-11 录用日期: 2020-10-19

摘要: 探讨纳米银(AgNPs)对蒙古黄芪种子萌发和幼苗生长的影响,并基于文献数据讨论 AgNPs 对单一物种的影响是否与数据挖掘趋势相符合。蒙古黄芪种子置于9个不同浓度的 AgNPs 溶液中,每日观察并记录种子萌发情况。观察结束后进行萌发和生长指标测定,并基于实验结果和文献数据进行比较分析。结果表明,随着 AgNPs 浓度升高,蒙古黄芪最终发芽率受到抑制,高浓度时显著降低($P<0.05$);浓度为 $600\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时平均发芽时间显著高于其他处理组($P<0.05$);浓度升高到 $400\sim 1\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,胚根长、子叶长和子叶宽受到抑制,显著低于对照组($P<0.05$);胚轴的长度未受到 AgNPs 浓度变化的影响;叶绿素和氮含量在 AgNPs 浓度为 $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时开始显著降低($P<0.05$);与对照组相比,各浓度处理组(除 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 外)的鲜质量与干质量均显著减少($P<0.05$);幼苗地上部分和地下部分抗氧化酶过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)和超氧化物歧化酶(SOD)活性变化趋势基本一致。通过计算抑制率表明, $600\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 AgNPs 对蒙古黄芪具有毒害作用。总的来说,实验结果部分符合数据挖掘模型趋势。比较几种分析模型发现,隶属函数法分析和主成分分析结果一致,meta 分析比冗余分析更适用于单一物种趋势的预测。AgNPs 抑制蒙古黄芪种子萌发,低浓度 AgNPs 对幼苗影响不明显,高浓度严重抑制幼苗生长。

关键词: AgNPs; 蒙古黄芪; 种子萌发; 幼苗生理特征; 生长抑制; 数据挖掘

文章编号: 1673-5897(2021)5-301-13 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Phytotoxicity of AgNPs on *Astragalus mongholicus* Seeds and Seedlings and Data Mining Analysis

Xu Rongrong^{1,2}, Gao Jing², Wei Simin¹, Guan Sijing², Ge Tiantian², Wang Nan^{1,*}, Tang Zhishu¹, Song Zhongxing¹

1. Co-construction Collaborative Innovation Center for Chinese Medicine Resources Industrialization by Shaanxi & Education Ministry, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712083, China

2. College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

Received 11 September 2020 accepted 19 October 2020

Abstract: To explore the influence of silver nanoparticles (AgNPs) on seed germination and seedling growth of *A.*

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-21);2018 年中医药公共卫生服务补助专项“全国中药资源普查项目”(财社[2018]43 号);陕西中医药大学校级科研课题(2020GP01)

第一作者: 徐蓉蓉(1995—),女,硕士,研究方向为药用植物生理生态学, E-mail: xu09nsn@163.com

*** 通讯作者(Corresponding author),** E-mail: gosouth@hotmail.com

mongholicus, and to discuss whether the impact of AgNPs on a single species is consistent with the trend of data mining. *A. mongholicus* seeds were cultured at nine different concentration levels of AgNPs solution. Seed germination was observed and recorded every day, and the parameters of germination and growth were measured after the observation. Based on the experimental results and literature data, the comparative analysis was performed. As the concentration of AgNPs increased, the total germination percentage of *A. mongholicus* was inhibited, and it decreased significantly at high concentration ($P<0.05$). The mean of germination time at concentrations of $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $1\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ was significantly higher than other treatments ($P<0.05$). When the concentration increased to $400 \sim 1\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the radicle length, cotyledon length and cotyledon width were significantly inhibited, which were significantly lower than that of the control group ($P<0.05$). The hypocotyl length wasn't influenced by the change of AgNPs concentration. The contents of chlorophyll and nitrogen began to decrease significantly when the AgNPs concentration was at $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ($P<0.05$). Compared with the control group, the fresh weight and dry weight of each treatment group (except $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) were significantly reduced ($P<0.05$). The antioxidant enzymes activity trends of catalase (CAT), peroxidase (POD) and superoxide dismutase (SOD) of aboveground and underground portions of seedlings were basically the same. Calculation of the inhibition rate showed that AgNPs of $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $1\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ had toxic effects on *A. mongholicus*. In general, the experimental results were partially consistent with the trend of data mining models. Comparing several analysis models, it was found that the results of membership function analysis and principal component analysis were consistent, and meta analysis was more suitable for single species trend prediction than redundancy analysis. AgNPs inhibited the germination of *A. mongholicus* seeds, low concentration AgNPs had little effect on seedlings, and high concentration seriously inhibited seedling growth.

Keywords: AgNPs; *A. mongholicus*; seed germination; seedling physiological characteristics; growth inhibition; data mining

随着纳米技术的进步,纳米颗粒被广泛应用于生产生活中,并不可避免地被释放到环境中^[1]。进入水中或土壤后,纳米颗粒的吸收、遗传毒性和细胞毒性等特性会发生一定的变化^[2-3]。比如纳米银(AgNPs)释放到环境中,团聚状态、表面化学性质和电荷,以及释放 Ag^+ 的能力由于被氧化和硫化而发生改变,最后使得其持续性和毒性受到影响^[4-5]。释放到环境中的纳米颗粒可被植物吸收,并运输到植物的根、茎、叶,甚至花和果实等部位,对植物各生长阶段造成影响。此外,一定数量的纳米颗粒可造成人体暴露。因此,在考虑进一步开发纳米技术的应用时必须确定纳米颗粒的安全性^[6]。AgNPs 因其广谱杀菌且无耐药性的特点使其应用广泛并成为研究的热点,关于其在植物方面的研究多集中于消极影响^[7-9],但也不乏一些积极效应的研究存在。例如,对 AgNPs 在拟南芥中的积累和运输进行研究,发现 AgNPs 对根的毒性作用是受其大小和浓度影响^[2]。而 Hojjat 和 Kamyab^[10]探究 AgNPs 在不同浓度的盐溶液对胡芦巴种子发芽和生长的作用,发现 AgNPs 的使用可以提高胡芦巴幼苗的耐盐性,其应用可能会刺激植物抵御盐毒的不同防御机制。研究发现

AgNPs 浓度为 $0.06 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时在农业上具有重要的应用价值,可作为一种替代性的生态友好型小麦肥料^[11]。

黄芪作为一味常用的补益药,目前主要依赖人工栽培。而作为中药材黄芪来源之一的蒙古黄芪为主流商品^[12]。天气和土壤条件等外在环境因素都会严重影响黄芪药材的产量和质量。纳米颗粒会通过各种途径被释放到土壤中,其中一部分可能由黄芪根部吸收,然后在体内迁移、转运或者蓄积,这可能会对黄芪的生长产生一定影响。如果人们直接或间接食用了含有纳米颗粒的黄芪,可能会对人类健康造成潜在威胁。因此为模拟实际栽培种植中可能存在的问题和隐患,本实验以豆科黄芪属植物蒙古黄芪(*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao, 简称为 *Astragalus mongholicus*) 为研究对象,研究不同浓度的 AgNPs 溶液对蒙古黄芪种子萌发和幼苗生长的毒害作用,并基于数据进行分析。大数据分析涉及的领域越来越广泛,成为当前的研究热点。为探讨单一植物蒙古黄芪对 AgNPs 的响应是否符合大数据分析形成的趋势,本研究使用冗余分析和 meta 分析进行验证,比较二者预

测结果与实际实验结果的差异,验证大数据分析的可靠性,旨在正确使用数学模型评价 AgNPs 的植物毒性,并为其实际应用提供依据。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 实验材料与实验设计

实验选用大小均一、颗粒成熟饱满的蒙古黄芪种子。将供试种子用体积比为 1:3 的过氧化氢:纯净水消毒 40 min,纯净水冲洗干净,备用。实验所用 AgNPs 粒径为 40 nm,由陕西中医药大学陕西中药资源产业化省部共建协同创新中心提供。以不同浓度 AgNPs 溶液处理为实验组,纯净水处理为对照组,相同的处理设置 6 个重复,每日更换培养皿中滤纸和处理液,并观察蒙古黄芪种子的萌发和幼苗生长情况。将所有种子置于直径为 90 mm 的培养皿中,每个培养皿 30 粒种子,实验组分别加入 10 mL 不同浓度的 AgNPs 溶液,使之将滤纸完全湿润,对照组加入相同体积的纯净水,种子萌发的标志为露白。AgNPs 溶液设置 9 个不同浓度:0、10、20、60、100、200、400、600 和 1 000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。整个实验过程在人工气候箱中完成,温度为 25 $^{\circ}\text{C}$ 、光/暗周期为 12 h/12 h、光照度为Ⅲ级和湿度为 60%。

利用文献搜索网站 Web of science、Google scholar 和中国知网(CNKI),设定“纳米银(AgNPs、silver nanoparticles、Ag nanoparticles)”、“种子(seed)”、“幼苗(seedling)”、“萌发(germination)”、“生长(growth)”等为关键词进行文献收集,共收集到文献 105 篇。经筛选,符合我们分析条件的文献有英文文献 16 篇,中文文献 2 篇。

1.2 种子萌发指标与幼苗生长指标测定

每日观察并记录各培养皿中发芽种子数,至所有培养皿连续 3 d 无新种子萌发时停止观察,次日进行各指标测定。最终发芽率(total germination percentage, TGP)=发芽种子数/供试总种子数;平均发芽时间(mean of germination time, MGT)= $\sum [(n_t \times t)/n]$,其中 n_t 为第 t 天的发芽数, n 为最终发芽数。

萌发实验结束后,从各处理的各重复中随机取出 9 株幼苗,分别测定幼苗生理生化指标,包括胚根长(radicle length, RL)、胚轴长(hypocotyl length, HL)、子叶长(cotyledon length, CL)、子叶宽(cotyledon width, CW)、总鲜质量(total fresh weight, TFW)、总干质量(total dry weight, TDW)、叶绿素含量(chlorophyll content, Chl)和氮含量(nitrogen content)。将测完鲜质量的幼苗放置烘箱,80 $^{\circ}\text{C}$ 烘干至恒重。不同指标

对 AgNPs 的耐受性不同,为了能更准确地比较 AgNPs 对蒙古黄芪的毒性作用,用 AgNPs 对各指标的抑制率表示,抑制率(inhibition rate, IR)=(1-处理组/对照组) $\times 100\%$,IR<0 表示具有促进作用,IR ≥ 0 表示具有抑制作用。IR 的绝对值越大,表示促进或抑制作用越大。

每个处理中选取长势较好的幼苗,分别取其地上和地下部分进行过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)和超氧化物歧化酶(SOD)含量测定,分别用 CAT_S、CAT_R、POD_S、POD_R、SOD_S、SOD_R 表示。CAT 采用紫外吸收法、POD 采用愈创木酚法、SOD 含量测定采用氮蓝四唑(NBT)光还原法分别进行含量测定。

1.3 数据处理

测定得到 16 个种子萌发和幼苗生长评价指标:最终发芽率(TGP, X_1)、平均发芽时间(MGT, X_2)、胚根长(RL, X_3)、胚轴长(HL, X_4)、子叶长(CL, X_5)、子叶宽(CW, X_6)、总鲜质量(TFW, X_7)、总干质量(TDW, X_8)、叶绿素含量(Chl, X_9)、氮含量(N, X_{10})、地上过氧化氢酶(CAT_S, X_{11})、地下过氧化氢酶(CAT_R, X_{12})、地上过氧化物酶(POD_S, X_{13})、地下过氧化物酶(POD_R, X_{14})、地上超氧化物歧化酶(SOD_S, X_{15})和地下超氧化物歧化酶(SOD_R, X_{16})。为验证实验结果的准确性,查阅 AgNPs 对植物种子和幼苗影响的相关文献,并搜集整理数据,同样得到 16 个评价指标:最终发芽率(TGP)、幼苗总长度(TL)、根长(RL)、根鲜质量(RFW)、根干质量(RDW)、茎长(SL)、茎鲜质量(SFW)、茎干质量(SDW)、幼苗总鲜质量(TFW)、幼苗总干质量(TDW)、叶绿素 a(Chl a)、叶绿素 b(Chl b)、总叶绿素(Chl)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)和超氧化物歧化酶(SOD)。

种子萌发指标和幼苗生长数据采用 Microsoft Excel 2013 和 IBM SPSS Statistics 21.0 软件进行计算、处理和差异显著性分析(LSD 法, $P<0.05$),并用 SigmaPlot 14.0 软件绘图。为评价 AgNPs 对蒙古黄芪种子萌发与幼苗生长的影响,首先设评价种子萌发与幼苗生长的指标的矩阵为 $X = \{X_1, X_2, \dots, X_{16}\}$,利用模糊隶属函数值法^[13]进行综合评价,本文采用梯形与半梯形分布模型来建立隶属函数,其公式如下: $U(X_j) = (X_j - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$, $j = 1, 2, \dots, n$; 式中: $U(X_j)$ 为不同浓度下的各指标的隶属函数值, X_j 表示第 j 个因子的得分值, $X_{\min}$ 表示第 j 个指标得分的最小值, $X_{\max}$ 表示第 j 个指标得分的最大值;第 j 个

综合指标在所有指标中的重要程度,即权重,用 W_j 表示: $W_j = P_j / \sum_{j=1}^n |P_j|$, 式中: P_j 为各指标第 j 个综合指标的贡献率;不同浓度下的综合评价: $D = \sum_{j=1}^n [U(X_j) \times W_j]$;再用 SPSS 21.0 软件先将上述指标进行标准化后进行指标之间的相关性判定,确定主成分的个数,并进一步确定各主成分 F_i 的表达式,利用主成分值及综合得分排名进行评价;然后选取相同指标并划分浓度区间(0、0~50、50~100、100~1 000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$),将本文各指标处理结果和文献数据分别导入 R 3.6.1 软件,载入 *vegan*、*ggplot2* 程序包分别进行冗余分析和 RDA 结果可视化;最后利用 Metawin 2.1 软件计算响应比(RR)后进行对数转换,并计算其 95% 的置信区间(95% CI),用于评估不同 AgNPs 浓度对各指标的影响效应大小,计算公式为: $\ln \text{RR} = \ln(X_t / X_c)$, 其中 X_t 为处理组平均值, X_c 为对照组平均值。

2 结果与分析 (Results and analysis)

2.1 AgNPs 对黄芪种子萌发的影响

由图 1(a)和(b)可知,在不同浓度 AgNPs 溶液中,蒙古黄芪种子的萌发受到不同程度的抑制,最终发芽率随着 AgNPs 浓度的升高而降低。在浓度 10~400 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的范围内,与对照组相比,处理组最终发芽率降低;而在浓度达到 600 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 1 000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,最终发芽率显著降低($P < 0.05$),在 1 000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,出现最低值,为 8.67%。由图 1(c)可知,浓度 10~400 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的处理与对照组的发芽时间无显著性差异;而浓度为 600 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 1 000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时平均发芽时间显著高于其他处理组($P < 0.05$),且 600 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的平均发芽时间最长,为 5.50 d。

2.2 AgNPs 对黄芪幼苗生长和抗氧化酶系统的影响

实验过程中,浓度为 10~400 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 AgNPs

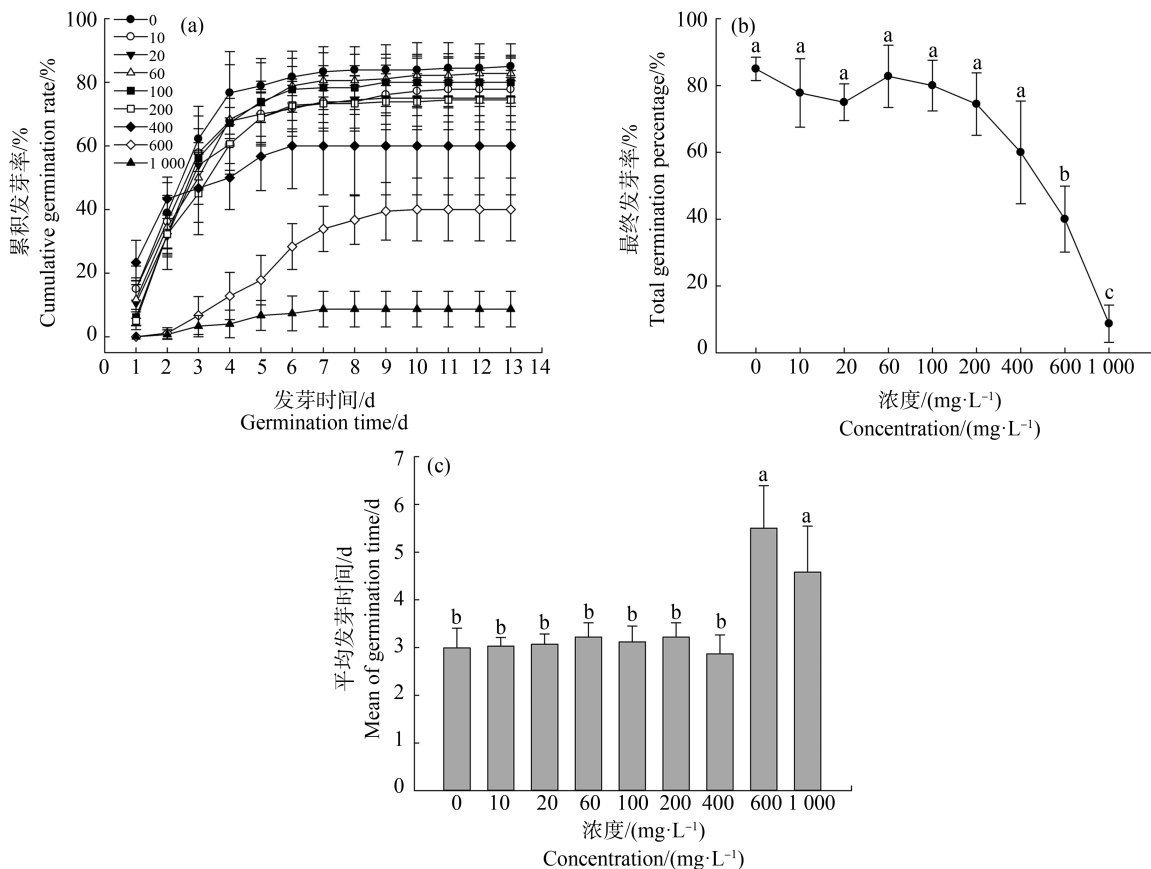


图1 AgNPs 对蒙古黄芪种子累计发芽率(a)、最终发芽率(b)和平均发芽时间(c)的影响($\bar{X} \pm S, n=6$)

注:柱状图和折线图上不同小写字母表示所有处理在 $P < 0.05$ 水平与对照组相比差异显著;下同。

Fig. 1 Effects of AgNPs on the cumulative germination rate (a), total germination percentage (b) and mean of germination time (c) of *A. mongholicus* seeds ($\bar{X} \pm S, n=6$)

Note: Values with different lowercase letters on the line and bars chart represent all treatments are significantly different from control at $P < 0.05$; the same below.

对蒙古黄芪幼苗的生长无影响,但随着浓度的升高,在观察后期其生长受到影响。浓度为 $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时在观察第 11 天幼苗开始陆续出现茎叶失水并腐烂的现象,至观察结束时,叶绿素、氮含量和抗氧化酶等指标已无法进行测量;而 $1\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,种子发芽后的生长受到严重抑制,胚根突出后,伸长非常缓慢,且在观察第 9 天时,发芽的种子开始腐烂发霉,观察结束时,生理生化指标已无法测量。

由图 2 可知,当浓度为 $400 \sim 1\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,胚根伸长受到抑制,显著低于对照组 ($P < 0.05$);除 $1\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 外,各处理间胚轴的长度未受到 AgNPs 浓度变化的显著影响,当浓度为 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,胚轴出现最大值,为 1.07 cm ,而最短值出现在对照组,为 0.77 cm ;子叶长趋势同胚根长度一致,浓度为 $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时开始受到抑制,为 $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时显著低于对照组 ($P < 0.05$);浓度为 $10 \sim 400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,与对照组相比,子叶宽无明显变化,当浓度达到 $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,子叶宽显著减少 ($P < 0.05$);叶绿素和氮含量随 AgNPs 浓度的增加趋势基本一致,浓度为 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时开始显著降低 ($P < 0.05$);与对照组相比较,各浓度处理组(除 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 外)的鲜质量与干质量均显著减少 ($P < 0.05$),最小值均出现在 $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,分别为 0.1426 g 和 0.0062 g 。

如图 3 所示,随着 AgNPs 溶液浓度升高,蒙古黄芪幼苗地上部分和地下部分的抗氧化酶 CAT、POD 和 SOD 活性变化趋势基本一致,且 POD 和 SOD 活性明显高于 CAT 活性。由图 3(a)可知,AgNPs 浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时激发黄芪幼苗产生过氧化氢酶应激,地上和地下部分活性均明显高于对照组,而其他处理的活性与对照组相比差别不大。由图 3(b)和(c)可知,POD 在 $10 \sim 400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ AgNPs 和 SOD 在 $10 \sim 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ AgNPs 的范围内,二者地上和地下部分活性均高于对照组。

2.3 AgNPs 的毒性与蒙古黄芪种子萌发和幼苗生长的关系

在表 1 中列出了不同 AgNPs 浓度处理后蒙古黄芪种子萌发和幼苗指标的抑制率,可知 AgNPs 对蒙古黄芪种子萌发和幼苗产生了不同程度的毒害作用。 $1\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,AgNPs 对蒙古黄芪幼苗生长有毒害作用,幼苗的生长指标已无法测定;AgNPs 对最终发芽率的抑制随着浓度升高而增强, $1\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 显著抑制种子萌发 ($P < 0.05$),抑制率为 89.92% ;AgNPs 对胚根长、子叶长、子叶宽、

总鲜质量和总干质量的抑制率在浓度为 $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到最高;但胚轴长的抑制不受 AgNPs 浓度影响,各浓度间无显著性差异;叶绿素含量的抑制率最高达到 38.33% ,对氮含量抑制率最高达到 29.43% 。

2.4 AgNPs 对蒙古黄芪种子萌发与幼苗生长影响评价及验证

2.4.1 隶属函数分析及综合评价

不同浓度 AgNPs 处理下蒙古黄芪各指标的隶属函数值如表 2 所示,其中 10 、 20 、 60 和 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ AgNPs 处理综合评价值均高于对照组,分别提高了 17.45% 、 11.35% 、 5.67% 和 5.53% ,说明低浓度 AgNPs 对蒙古黄芪的生长有一定促进作用;浓度 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 AgNPs 处理综合评价值与对照相比分别降低了 1.70% 和 17.30% ,这表明,中浓度 AgNPs 对蒙古黄芪的生长有一定的抑制作用,而 $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ AgNPs 处理综合评价值与对照相比分别降低了 62.27% 和 94.18% ,可见高浓度 AgNPs 对蒙古黄芪具有毒害作用,严重影响了蒙古黄芪生长发育。

2.4.2 主成分分析

为保持原始各指标数值的相对稳定性,对原始数据进行标准化处理后再分析,标准化处理后的数据如表 3 所示。主成分分析对原有变量总体描述情况如表 4 所示,由表 4 提取了 2 个主成分,其累积方差贡献率达到 85.817% 。由软件直接得出的初始因子载荷矩阵得分除以相应的特征值的平方根,以计算载荷得到主成分载荷矩阵(即每个主成分中每个指标对应的系数),结果如表 5 所示。根据方程计算出不同浓度的各主成分及综合得分(表 6)。由本实验结果进行主成分分析结果发现,提取了 2 个主成分,浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的综合得分最高,为 2.414 。

由以上分析过程得到相应的主成分表达式如下:

$$F_1 = 0.28X_1 - 0.255X_2 + 0.281X_3 + 0.18X_4 + 0.275X_5 + 0.272X_6 + 0.248X_7 + 0.271X_8 + 0.28X_9 + 0.282X_{10} + 0.138X_{11} + 0.151X_{12} + 0.26X_{13} + 0.256X_{14} + 0.253X_{15} + 0.251X_{16}$$

$$F_2 = -0.094X_1 - 0.055X_2 - 0.042X_3 - 0.301X_4 - 0.145X_5 - 0.154X_6 - 0.258X_7 - 0.159X_8 + 0.056X_9 + 0.041X_{10} + 0.605X_{11} + 0.594X_{12} + 0.046X_{13} - 0.028X_{14} + 0.097X_{15} + 0.15X_{16}$$

$$F = 0.87F_1 + 0.13F_2$$

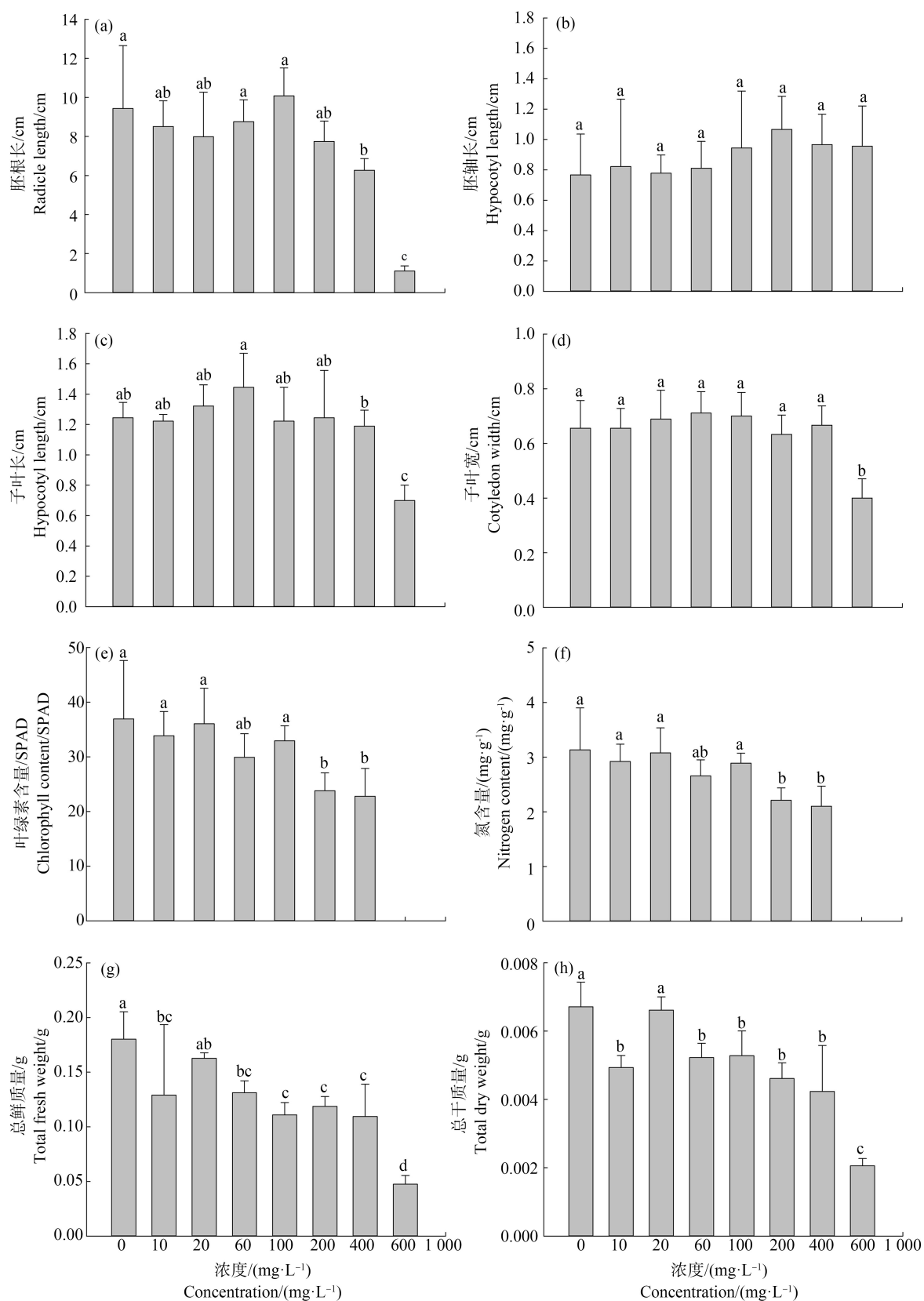


图2 AgNPs对蒙古黄芪幼苗生长的影响 ($\bar{X} \pm S, n=9$)

Fig. 2 Effects of AgNPs on the growth of *A. mongholicus* seedlings ($\bar{X} \pm S, n=9$)

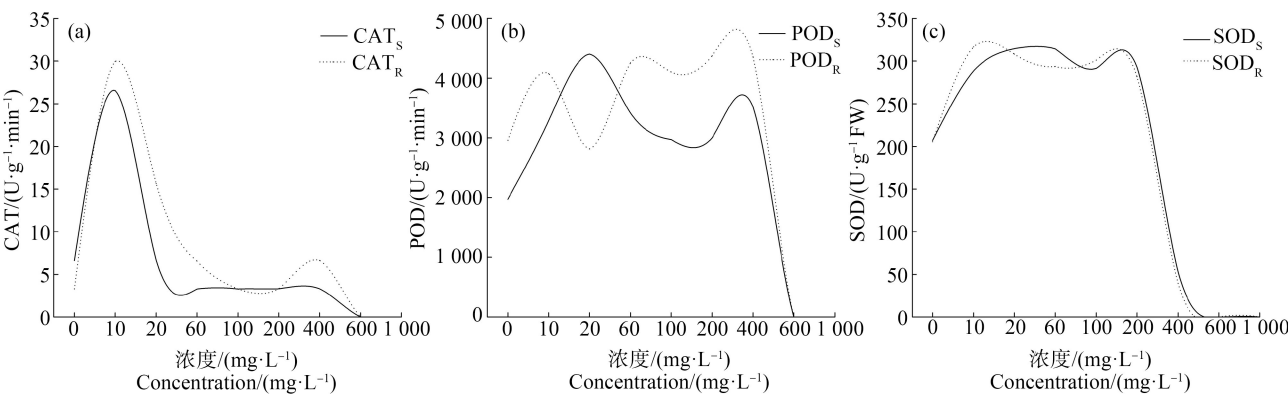


图 3 AgNPs 对蒙古黄芪幼苗地上和地下部分抗氧化酶的影响
注:CAT_s 表示地上过氧化氢酶,CAT_r 表示地下过氧化氢酶,POD_s 表示地上过氧化物酶,POD_r 表示地下过氧化物酶,
SOD_s 表示地上超氧化物歧化酶,SOD_r 表示地下超氧化物歧化酶。

Fig. 3 Effects of AgNPs on antioxidant enzymes of aboveground and underground portions of *A. mongholicus* seedlings
Note: CAT_s and CAT_r represent shoot- and root catalase; POD_s and POD_r represent shoot- and root peroxidase;
SOD_s and SOD_r represent shoot- and root superoxide dismutase.

表 1 不同 AgNPs 浓度对蒙古黄芪种子和幼苗指标的抑制率
Table 1 Inhibition rate of indexes of *A. mongholicus* seed and seedling under different AgNPs concentrations

浓度/(mg·L ⁻¹) Concentration /(mg·L ⁻¹)	TGP /%	RL /%	HL /%	CL /%	CW /%	TFW /%	TDW /%	Chl /%	N /%
10	9.56c	9.78bc	-46.38a	1.79b	0.00b	37.79b	32.12b	8.36bc	6.74bc
20	12.79c	15.31bc	-1.45a	-6.25b	-5.08b	9.75c	1.49c	2.44c	1.77c
60	3.75c	5.32bc	-5.80a	-16.07b	-8.47b	27.17bc	22.19bc	19.01b	15.25b
100	6.98c	-6.83c	-23.19a	1.79b	-6.78b	38.44b	21.36bc	10.89bc	7.80bc
200	13.44c	16.25bc	-39.13a	0.00b	3.39b	34.12b	31.29b	35.62a	29.43a
400	9.56c	29.72b	-26.09a	4.46b	-1.69b	39.28b	27.65b	38.33a	8.87bc
600	53.49b	72.71a	-24.64a	43.75a	38.98a	73.62a	69.37a	-	-
1 000	89.92a	-	-	-	-	-	-	-	-

注:TGP 表示最终发芽率,RL 表示胚根长,HL 表示胚轴长,CL 表示子叶长,CW 表示子叶宽,TFW 表示总鲜质量,TDW 表示总干质量,Chl 表示叶绿素含量,N 表示氮含量,- 表示无法测定;不同小写字母表示所有处理在 $P<0.05$ 水平与对照组相比差异显著。
Note: TGP represents total germination percentage; RL represents radicle length; HL represents hypocotyl length; CL represents cotyledon length; CW represents cotyledon width; TFW represents total fresh weight; TDW represents total dry weight; Chl represents chlorophyll content; N represents nitrogen content; - represents unmeasured; lowercase letters represent all treatments are significantly different from control at $P<0.05$.

2.4.3 冗余分析

由图 4(a)可知,TGP、RL、SL、TFW、TDW、Chl 与 CAT_s 相关性强,而 CAT_r、SOD_s、SOD_r 与 POD_s 相关性较强。AgNPs 浓度在 0~50 mg·L⁻¹ 时对蒙古黄芪的 CAT_r、SOD_s、SOD_r 和 POD_s 影响较大,在 50~100 mg·L⁻¹ 时对蒙古黄芪的 POD_r 影响较大,而蒙古黄芪其余指标受 AgNPs 浓度变化影响不明显。由图 4(b)可知,TFW 与 Chl、TDW 与 RL 相关性较强,CAT、POD 与 SOD 相关性强,AgNPs 浓度

在 0 mg·L⁻¹ 时(对照组)对 TDW 和 RL、0~50 mg·L⁻¹ 对 SL、50~100 mg·L⁻¹ 对 TGP、100~1 000 mg·L⁻¹ 对 TFW 和 Chl 影响较大。

2.4.4 Meta 分析

为进一步明确不同浓度的 AgNPs 对植物种子萌发和幼苗生长指标的影响,利用 Meta 分析来进行讨论。由图 5 可知,AgNPs 浓度<50 mg·L⁻¹ 时,对 TGP、MGT、GI 和 TFW 的影响为显著正效应,而对 TDW 影响不显著;浓度 50~100 mg·L⁻¹ 和 100

~1 000 mg·L⁻¹时,对 TGP、GI 没有显著影响;3 个 AgNPs 浓度区间均使得 RL 和 SL 显著减少;浓度<50 和 100~1 000 mg·L⁻¹时对叶绿素 *a*、叶绿素 *b* 和总叶绿素影响不显著。

3 讨论 (Discussion)

人们对纳米材料安全性的认知需求伴随着纳米技术的迅速发展及纳米材料的广泛应用而不断增强。种子萌发实验是一种快速的植物毒性检测方

法,具有灵敏度高、操作简单和成本低等优点,故常用于进行纳米颗粒毒性评价实验^[14-15]。比如,AgNPs 对水稻种子萌发和幼苗的生长具有明显的剂量依赖性抑制作用,AgNPs 在设置的浓度范围内(0.1、1、10、100 和 1 000 mg·L⁻¹)都会影响幼苗的生长^[16]。AgNPs 颗粒似乎由于浓度和受供试植物种类不同而对植物产生不同的影响。AgNPs 浓度为 0.5 mg·L⁻¹和 2.5 mg·L⁻¹时对西葫芦种子萌发有促进作用,而 2 mg·L⁻¹时提高了西瓜发芽率^[17]。AgNPs 浓度

表 2 不同 AgNPs 浓度下蒙古黄芪种子和幼苗指标的隶属函数值
Table 2 Sobordinative function values among indexes of *A. mongholicus* seeds and seedlings under different AgNPs concentrations

浓度 /(mg·L ⁻¹) Concentration /(mg·L ⁻¹)	TGP	MGT	RL	HL	CL	CW	TFW	TDW	Chl	N	CAT _s	CAT _R	POD _s	POD _R	SOD _s	SOD _R	综合评价 Comprehensive evaluation value	排序 Order
0	1.000	0.047	0.936	0.719	0.862	0.922	1.000	1.000	1.000	1.000	0.249	0.110	0.448	0.677	0.659	0.649	0.705	5
10	0.905	0.061	0.845	0.771	0.846	0.922	0.716	0.735	0.916	0.933	1.000	1.000	0.747	0.932	0.917	1.000	0.828	1
20	0.869	0.036	0.793	0.729	0.915	0.969	0.903	0.985	0.976	1.000	0.250	0.522	1.000	0.644	1.000	0.973	0.785	2
60	0.971	0.134	0.869	0.760	1.000	1.000	0.728	0.778	0.810	0.848	0.124	0.219	0.776	0.973	1.000	0.928	0.745	3
100	0.934	0.095	1.000	0.885	0.982	0.984	0.616	0.786	0.891	1.000	0.124	0.110	0.675	0.938	0.927	0.951	0.744	4
200	0.862	0.134	0.768	1.000	1.000	0.891	0.659	0.687	0.644	0.706	0.125	0.111	0.682	1.000	0.931	0.890	0.693	6
400	0.672	0.000	0.622	0.906	1.000	0.922	0.607	0.631	0.617	0.911	0.125	0.221	0.799	0.996	0.168	0.125	0.583	7
600	0.410	1.000	0.110	0.896	0.700	0.563	0.264	0.306	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.266	8
1 000	0.000	0.651	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.041	9

注:MGT 表示平均发芽时间。
Note: MGT represents mean of germination time.

表 3 标准化处理后的数据
Table 3 Standardized data

指标 Index	0 mg·L ⁻¹	10 mg·L ⁻¹	20 mg·L ⁻¹	60 mg·L ⁻¹	100 mg·L ⁻¹	200 mg·L ⁻¹	400 mg·L ⁻¹	600 mg·L ⁻¹	1 000 mg·L ⁻¹
Z-TGP	0.797	0.511	0.401	0.709	0.599	0.379	-0.192	-0.983	-2.222
Z-MGT	-0.574	-0.533	-0.490	-0.322	-0.434	-0.322	-0.711	2.201	1.184
Z-RL	0.766	0.511	0.368	0.579	0.943	0.300	-0.107	-1.527	-1.833
Z-HL	-0.075	0.102	-0.039	0.067	0.493	0.883	0.563	0.528	-2.522
Z-CL	0.340	0.350	0.573	0.846	0.350	0.399	0.275	-0.815	-2.377
Z-CW	0.377	0.377	0.520	0.616	0.568	0.281	0.425	-0.722	-2.442
Z-TFW	1.355	-0.388	1.039	0.474	0.109	0.249	0.082	-1.032	-1.887
Z-TDW	1.062	0.057	1.015	0.368	0.394	0.083	0.197	-1.109	-2.067
Z-Chl	0.892	0.679	0.830	0.407	0.614	-0.017	-0.086	-1.659	-1.659
Z-N	0.820	0.651	0.775	0.437	0.624	0.081	-0.008	-1.690	-1.690
Z-CAT _s	0.089	2.553	0.094	-0.322	-0.322	-0.318	-0.318	-0.728	-0.728
Z-CAT _R	-0.451	2.325	0.834	-0.114	-0.451	-0.449	-0.105	-0.796	-0.796
Z-POD _s	-0.344	0.501	1.217	0.583	0.299	0.317	0.650	-1.612	-1.612
Z-POD _R	-0.019	0.603	-0.099	0.705	0.619	0.769	0.760	-1.670	-1.670
Z-SOD _s	0.083	0.672	0.860	0.859	0.693	0.703	-1.035	-1.418	-1.418
Z-SOD _R	0.082	0.876	0.816	0.712	0.766	0.628	-1.105	-1.388	-1.388

中使用的 AgNPs 是经过聚乙烯吡咯烷酮(PVP)包被,增加了其稳定性,且蓖麻经 AgNPs 处理后其 POD 和 SOD 活性增强,并产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)^[18]。由此可以推测,AgNPs 经过表面或生物修饰变得较稳定,不会对植物产生显著的负面影响,这或许是降低纳米粒子毒性的有效措施。本研究中,随着 AgNPs 浓度的升高,蒙古黄芪最终发芽率降低;而低浓度 AgNPs 对幼苗的生长无影响,高浓度使幼苗后期的生长严重受到影响。这说明高浓度的 AgNPs 积累过多,对植物生长产生了强

表 4 主成分分析总方差分析表

Table 4 Total variance explained table in principal component analysis

成分 Component	初始特征值 Initial eigenvalue			提取平方和载入 Extraction sums of squared loadings		
	特征值 Eigenvalue	方差的贡献率/%	累积贡献率/%	特征值 Eigenvalue	方差的贡献率/%	累积贡献率/%
		Variance	Accumulative		Variance	Accumulative
		contribution rate/%	contribution rate/%		contribution rate/%	contribution rate/%
1	11.946	74.665	74.665	11.946	74.665	74.665
2	1.784	11.152	85.817	1.784	11.152	85.817
3	0.887	5.545	91.361			
4	0.562	3.515	94.876			
5	0.474	2.96	97.836			
6	0.26	1.626	99.461			
7	0.044	0.275	99.736			
8	0.042	0.264	100			
9	1.00E-13	1.03E-13	100			
10	1.00E-13	1.02E-13	100			
11	1.00E-13	1.00E-13	100			
12	-1.00E-13	-1.01E-13	100			
13	-1.00E-13	-1.01E-13	100			
14	-1.00E-13	-1.01E-13	100			
15	-1.00E-13	-1.02E-13	100			
16	-1.01E-13	-1.04E-13	100			

表 5 载荷矩阵分析

Table 5 Loading matrix analysis

指标 Index	初始因子载荷矩阵 Initial factor loading matrix		主成分载荷矩阵 Principal component loading matrix	
	1	2	1	2
TGP	0.968	-0.126	0.28	-0.094
MGT	-0.882	-0.073	-0.255	-0.055
RL	0.972	-0.056	0.281	-0.042
HL	0.623	-0.402	0.18	-0.301
CL	0.951	-0.194	0.275	-0.145
CW	0.941	-0.206	0.272	-0.154
TFW	0.857	-0.344	0.248	-0.258
TDW	0.937	-0.213	0.271	-0.159
Chl	0.967	0.075	0.28	0.056
N	0.976	0.055	0.282	0.041
CAT _S	0.477	0.808	0.138	0.605
CAT _R	0.521	0.794	0.151	0.594
POD _S	0.898	0.062	0.26	0.046
POD _R	0.886	-0.037	0.256	-0.028
SOD _S	0.876	0.13	0.253	0.097
SOD _R	0.867	0.201	0.251	0.15

表 6 不同浓度 AgNPs 对蒙古黄芪种子萌发和幼苗生长综合评价表

Table 6 Comprehensive evaluation form of seed germination and seedling growth of *A. mongholicus* with different concentrations of AgNPs

浓度/(mg·L ⁻¹) Concentration/(mg·L ⁻¹)	F ₁	F ₂	F	综合得分排名 Comprehensive score ranking
0	1.779	-0.813	1.442	5
10	2.311	3.104	2.414	1
20	2.469	0.288	2.186	2
60	1.977	-0.514	1.653	3
100	1.856	-0.673	1.527	4
200	1.223	-0.776	0.963	6
400	0.202	-0.783	0.0743	7
600	-4.863	-0.899	-4.347	8
1 000	-6.955	1.068	-5.912	9

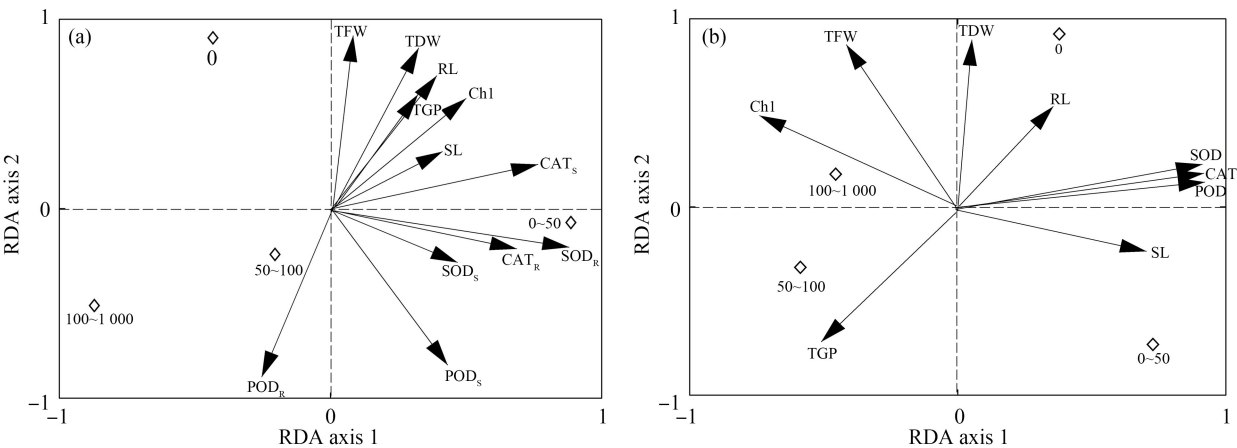


图 4 不同浓度 AgNPs 对蒙古黄芪 (a)、其他植物 (b) 种子萌发和幼苗生长参数 RDA 二维排序图

注: SL 表示茎长; ◇ 表示 AgNPs 浓度区间, 包括 0、0 ~ 50 mg·L⁻¹、50 ~ 100 mg·L⁻¹、100 ~ 1 000 mg·L⁻¹;

数据来源于参考文献[6-9,11,15-21,23-25,27, 29-30]。

Fig. 4 RDA two-dimensional ordination diagram of seed germination and seedling growth parameters of *A. mongholicus* (a) and other plants (b) with different concentrations of AgNPs

Note: SL stands for shoot length; ◇ represents the AgNPs concentration range, including 0, 0 ~ 50 mg·L⁻¹, 50 ~ 100 mg·L⁻¹, 100 ~ 1 000 mg·L⁻¹; data refers to references [6-9,11,15-21,23-25,27, 29-30].

烈的胁迫^[9]。同样的,将水稻幼苗暴露于不同浓度的 AgNPs 后,观察到根伸长、茎和根鲜质量、总叶绿素和类胡萝卜素含量显著降低,这可能是因为 AgNPs 暴露导致 ROS 生成量增加,引起细胞毒性^[20]。虽然关于纳米粒子的研究较多,但纳米毒性的机理仍不清楚。据推测纳米毒性可能来自化学成分本身具有的化学毒性(如有毒离子的释放)和颗粒表面、大小以及形状引起的压力或刺激^[21]。

纳米颗粒对植物的影响体现在不同方面,首先根系被认为是植物暴露于纳米颗粒的主要途径,可能导致植物的物理或化学毒性^[22-23]。Gusev 等^[24]在

含有 AgNPs 的培养基中培养甜菜,发现根系生长受到抑制。本实验研究结果与此一致,蒙古黄芪胚根的伸长随着 AgNPs 浓度的升高受到抑制。而且纳米粒子可以由根部运输至叶片,或者被气孔直接吸收蓄积在叶片等,叶片的生长也会受到影响^[25]。此外,叶绿素含量、含氮量及氧化应激水平的变化可以解释蒙古黄芪幼苗形态学的变化^[26]。叶绿素和氮含量在 AgNPs 浓度为 200 mg·L⁻¹ 时开始显著降低,随着 AgNPs 浓度升高,叶绿素含量降低,这与前人的研究结果一致^[6,25]。10 mg·L⁻¹ 的 AgNPs 激发黄芪幼苗产生过氧化氢酶应激,地上和地下部分 CAT 活

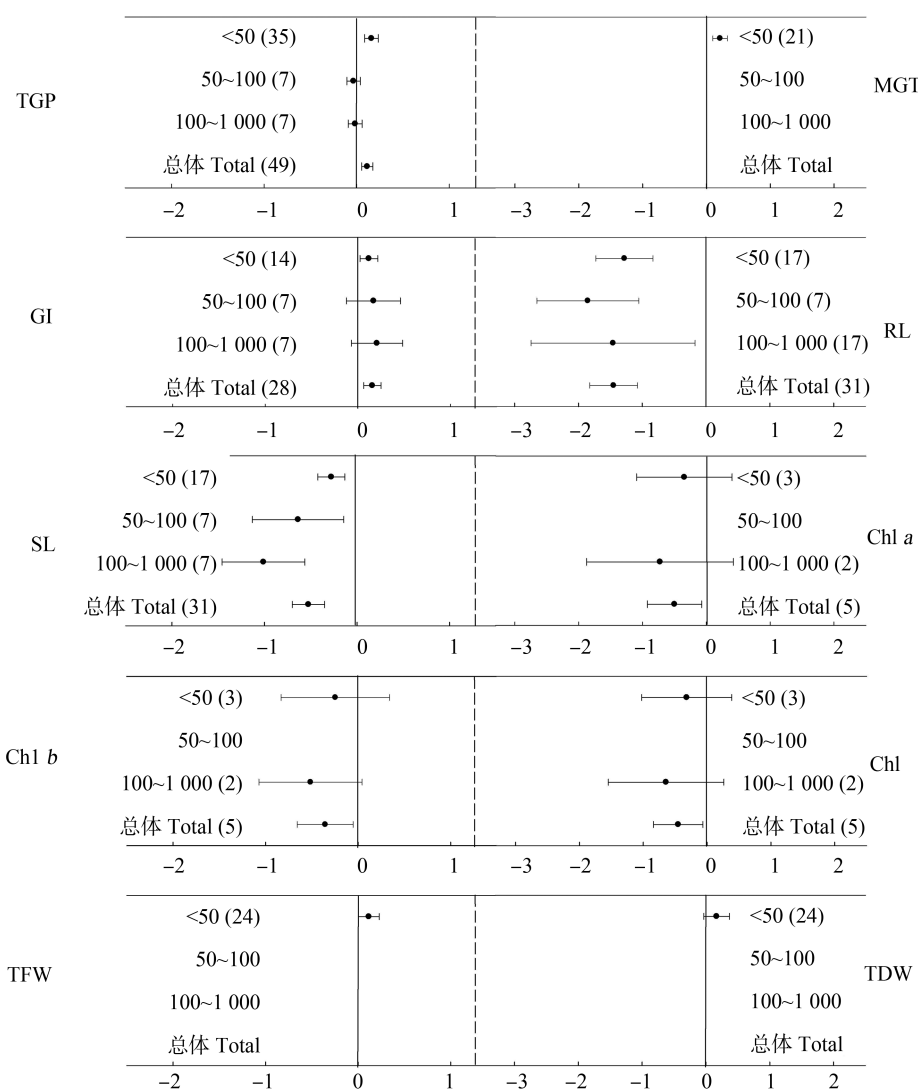


图5 不同浓度 AgNPs 对植物种子萌发和幼苗生长影响的平均效应大小

注:GI 表示发芽指数;<50, 50~100, 100~1 000 表示 AgNPs 浓度区间,包括<50 mg·L⁻¹、50~100 mg·L⁻¹、100~1 000 mg·L⁻¹, 括号内的数字表示样本量,误差线表示 95% 置信区间,数据来源于参考文献[17-18,24,29]。

Fig. 5 Mean effect sizes of different concentrations of AgNPs on plant seed germination and seedling growth

Note: GI stands for germination index; <50, 50~100, 100~1 000 represent the AgNPs concentration range, including <50 mg·L⁻¹, 50~100 mg·L⁻¹, 100~1 000 mg·L⁻¹; the number in parentheses represents the sample size for each variable; error bars represent 95% confidence intervals; data refers to references [17-18,24,29].

性均明显高于对照组。Cvjetko 等^[27]的研究表明一般根部暴露于较低浓度的 AgNPs 则引起较高的 CAT 活性。POD 在 10~400 mg·L⁻¹ AgNPs 和 SOD 在 10~200 mg·L⁻¹ AgNPs 的范围内,二者地上和地下部分活性均高于对照组,说明抗氧化酶系统在这个范围内较好保护了蒙古黄芪幼苗。在无压力和压力温和的条件下,由于抗氧化酶的适当活性,ROS 的形成和去除达到平衡。而在较高浓度下,SOD 活性增加不足以抵御 ROS 形成增加,ROS 形成过量时防御系统可能无法承受^[27]。故高浓度 AgNPs

(600 mg·L⁻¹ 和 1 000 mg·L⁻¹)的毒性较强,蒙古黄芪幼苗体内的抗氧化酶系统不足以抵抗,组织细胞受到一定的损伤,所以幼苗开始发霉腐烂或死亡,不能正常生长。有研究表明,AgNPs 可通过影响植物体内的活性氧、植物激素和能量代谢等途径来影响植物生长发育^[28]。但是,具体的活性氧物质以及 AgNPs 如何与植物互动还需进一步研究。

由于单一指标并不能准确全面地概括不同浓度 AgNPs 对蒙古黄芪的影响^[13],故对所有测定指标的结果用隶属函数法分析和主成分分析来进行综合评

价,二者虽然是不同的计算方法但结果一致,更加证明了结果的可靠性。结果表明,低浓度的 AgNPs 可以促进蒙古黄芪生长发育,但随着浓度的升高,产生抑制作用,高浓度 AgNPs 对蒙古黄芪甚至具有毒害作用,符合之前的研究结果^[19,29-30]。冗余分析发现同一类型的指标相关性较强,且浓度影响某些指标的变化,尤其是 CAT、POD 和 SOD,而预测结果和实际结果的其他各指标和划分的浓度区间分布位置和距离并不相同(图 4),可能是受到实验设计、种子或幼苗类型等的影响。而 meta 分析中 AgNPs 的 3 个浓度区间均影响植物根和茎的伸长(图 5),本研究结果符合这一预测结果。由此可以说明,meta 分析的结果比冗余分析更适用于单一物种趋势的预测。综上所述,AgNPs 对单一植物蒙古黄芪的作用部分符合大数据分析的趋势,这可能是由于 AgNPs 对植物生长产生的影响是综合性结果,不同植物由于其不同的生长时期(比如萌发期、幼苗期、花期和果期等)和生理特性(抗氧化系统活性、光合作用和气孔开合等)对环境条件的响应表现出一定的差异性,故目前现存的数据挖掘分析结果并不能概括所有的植物类型。根据文献发现 AgNPs 对植物的影响可以概括为抑制(AgNPs 表现出植物毒性)、促进和无影响 3 种结果,因此在讨论 AgNPs 对植物生长发育的影响时,按照具体的植物类型来进行分析是很有必要的。

通讯作者简介:王楠(1983—),男,博士,副教授,主要研究方向为药用植物生理生态学。

参考文献 (References):

- [1] 彭程. 氧化铜纳米颗粒在土壤—水稻系统中的形态转化机制研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2016: 1-6
Peng C. Transformation of copper oxide nanoparticles in the system of paddy soil and rice (*Oryza sativa* L.) [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2016: 1-6 (in Chinese)
- [2] Geisler-Lee J, Wang Q, Yao Y, et al. Phytotoxicity, accumulation and transport of silver nanoparticles by *Arabidopsis thaliana* [J]. Nanotoxicology, 2012, 7(3): 323-337
- [3] Joško I, Oleszczuk P. Influence of soil type and environmental conditions on ZnO, TiO₂ and Ni nanoparticles phytotoxicity [J]. Chemosphere, 2013, 92(1): 91-99
- [4] Lowry G V, Espinasse B P, Badireddy A R, et al. Long-term transformation and fate of manufactured Ag nanoparticles in a simulated large scale freshwater emergent wetland [J]. Environmental Science & Technology, 2012, 46(13): 7027-7036
- [5] Levard C, Reinsch B C, Michel F M, et al. Sulfidation processes of PVP-coated silver nanoparticles in aqueous solution: Impact on dissolution rate [J]. Environmental Science & Technology, 2011, 45(12): 5260-5266
- [6] Song U, Jun H, Waldman B, et al. Functional analyses of nanoparticle toxicity: A comparative study of the effects of TiO₂ and Ag on tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2013, 93: 60-67
- [7] Zuverza-Mena N, Armendariz R, Peralta-Videa J R, et al. Effects of silver nanoparticles on radish sprouts: Root growth reduction and modifications in the nutritional value [J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 90
- [8] Wang L F, Zhu J Z, Wu Q Y, et al. Effects of silver nanoparticles on seed germination and seedling growth of radish (*Raphanus sativus* L.) [C]. Proceedings of the 2nd International Conference on Civil, Materials and Environmental Sciences, Paris: Atlantis Press, 2015
- [9] 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
- [10] Hojjat S S, Kamyab M. The effect of silver nanoparticle on Fenugreek seed germination under salinity levels [J]. Russian Agricultural Sciences, 2017, 43(1): 61-65
- [11] Asanova A A, Yashin S E, Trofimova T V, et al. Application of silver nanoparticles to improve wheat seedlings growth [J]. Conference Series: Earth and Environmental Science, 2019, 315: 052041
- [12] 秦雪梅, 李震宇, 孙海峰, 等. 我国黄芪药材资源现状与分析[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(19): 3234-3238
Qin X M, Li Z Y, Sun H F, et al. Status and analysis of *Astragali Radix* resource in China [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2013, 38 (19): 3234-3238 (in Chinese)
- [13] 赵鑫, 王文娟, 王普昶, 等. 不同钙浓度对宽叶雀稗幼苗的生长和抗性生理的影响[J]. 植物生态学报, 2019, 43(10): 909-920
Zhao X, Wang W J, Wang P C, et al. Effects of different calcium concentrations on growth and physiology of *Paspalum wettsteinii* seedlings [J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2019, 43(10): 909-920 (in Chinese)
- [14] Shaw A K, Hossain Z. Impact of nano-CuO stress on rice (*Oryza sativa* L.) seedlings [J]. Chemosphere, 2013, 93(6): 906-915
- [15] Saeideh N, Rashid J. Effect of silver nanoparticles and Pb(NO₃)₂ on the yield and chemical composition of Mung bean (*Vigna radiata*) [J]. Journal of Stress Physiology &

- Biochemistry, 2014, 10(1): 316-325
- [16] Thuesombat P, Hannongbua S, Akasit S, et al. Effect of silver nanoparticles on rice (*Oryza sativa* L. cv. KDML 105) seed germination and seedling growth [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2014, 104: 302-309
- [17] Almutairi Z, Alharbi A. Effect of silver nanoparticles on seed germination of crop plants [J]. Journal of Advances in Agriculture, 2015, 4(1): 280-285
- [18] Yasur J, Rani P U. Environmental effects of nanosilver: Impact on castor seed germination, seedling growth, and plant physiology [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2013, 20(12): 8636-8648
- [19] Karami Mehrian S, Heidari R, Rahmani F, et al. Effect of chemical synthesis silver nanoparticles on germination indices and seedlings growth in seven varieties of *Lycopersicon esculentum* mill (tomato) plants [J]. Journal of Cluster Science, 2016, 27(1): 327-340
- [20] Nair P M G, Chung I M. Physiological and molecular level effects of silver nanoparticles exposure in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings [J]. Chemosphere, 2014, 112: 105-113
- [21] Parveen A, Rao S. Effect of nanosilver on seed germination and seedling growth in *Pennisetum glaucum* [J]. Journal of Cluster Science, 2015, 26(3): 693-701
- [22] Anjum N A, Gill S S, Duarte A C, et al. Silver nanoparticles in soil-plant systems [J]. Journal of Nanoparticle Research, 2013, 15(9): 1-26
- [23] 陈斌. 纳米银对拟南芥生理生化特性的影响[D]. 海口: 海南大学, 2017: 1-3
- Chen B. The impact of silver nanoparticles on *Arabidopsis thaliana* and its physiological and biochemical characteristics [D]. Haikou: Hainan University, 2017: 1-3 (in Chinese)
- [24] Gusev A A, Kudrinsky A A, Zakharova O V, et al. Versatile synthesis of PHMB-stabilized silver nanoparticles and their significant stimulating effect on fodder beet (*Beta vulgaris* L.) [J]. Materials Science and Engineering: C, 2016, 62: 152-159
- [25] 彭小凤. 纳米银对拟南芥营养生长与开花的影响[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2013: 5-6, 22
- Peng X F. The effects of silver nanoparticles on the vegetative growth and flowering of *Arabidopsis thaliana* [D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2013: 5-6, 22 (in Chinese)
- [26] 施夏明, 高超, 乔宁宁, 等. 纳米金对绿豆(*Phaseolus radiatus*)种子萌发和幼苗生长的影响及其生理机制[J]. 生态学杂志, 2019, 38(4): 945-952
- Shi X M, Gao C, Qiao N N, et al. Effects of gold nanoparticles on seed germination and seedling growth of mung bean (*Phaseolus radiatus*) and the underlying physiological mechanism [J]. Chinese Journal of Ecology, 2019, 38(4): 945-952 (in Chinese)
- [27] Cvjetko P, Zovko M, Štefanić P P, et al. Phytotoxic effects of silver nanoparticles in tobacco plants [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2018, 25(6): 5590-5602
- [28] 孙举志, 向极钎, 殷红清, 等. 纳米银与植物的相互作用: 吸收、迁移、累积、转化、生物效应及潜在机制[J]. 植物生理学报, 2019, 55(11): 1570-1578
- Sun J Z, Xiang J Q, Yin H Q, et al. Interactions between silver nanoparticle and plants: Uptake, translocation, accumulation, transformation, bioeffect and underlying mechanism [J]. Plant Physiology Journal, 2019, 55(11): 1570-1578 (in Chinese)
- [29] Baskar V, Venkatesh J, Park S W. Impact of biologically synthesized silver nanoparticles on the growth and physiological responses in *Brassica rapa* ssp. *Pekinensis* [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2015, 22(22): 17672-17682
- [30] Al-Huqail A A, Hatata M M, Al-Huqail A A, et al. Preparation, characterization of silver phyto nanoparticles and their impact on growth potential of *Lupinus termis* L. seedlings [J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2018, 25(2): 313-319
- ◆