

氧化石墨烯对黑麦草根系抗逆生理特性的影响

苏 航, 毛建越, 赵树兰*, 多立安

(天津师范大学 生命科学学院, 天津市动植物抗性重点实验室, 天津 300387)

摘 要: 该研究通过向土壤中添加不同含量(1%、2%、3%、4%和5%)的氧化石墨烯(graphene oxide, GO), 分析其对黑麦草根系生长及抗逆生理特性的影响。结果表明: (1) 低剂量(1%和2%)的GO对黑麦草根系生长没有显著影响, 高剂量(3%~5%)的GO处理显著抑制了黑麦草根系生长。 (2) 1% GO处理对根体积和根生物量没有影响, 随着GO添加量的增加, 黑麦草根体积和根生物量逐渐减小, 在5% GO处理下, 降至最低, 根干重较对照降低了22.64%。 (3) 1% GO处理对黑麦草根保护酶活性与丙二醛(MDA)含量影响不显著, 随着GO添加量的增加, 过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性显著高于对照组, 且MDA含量也显著增加, 说明GO对黑麦草根系生长产生了氧化胁迫。 (4) GO处理超过1%时黑麦草根系活力显著下降, 并于5% GO处理下根系活力降至最小, 较对照下降了35.07%。研究认为, 低剂量(1%~2%)的GO对黑麦草的生长没有影响, 而高剂量GO则会对根系产生明显的氧化胁迫, 从而造成根系损伤。

关键词: 氧化石墨烯; 黑麦草根系; 抗逆; 生理特性; 氧化胁迫

中图分类号: Q945.78

文献标志码: A

Effects of Graphene Oxide on the Physiological Characteristics of Stress Resistance in Ryegrass Roots

SU Hang, MAO Jianyue, ZHAO Shulan*, DUO Li'an

(College of Life Sciences, Tianjin Normal University, Tianjin Key Laboratory of Animal and Plant Resistance, Tianjin 300387, China)

Abstract: We carried out pot experiments to explore the effects of graphene oxide (GO) added in soil with different dosages (1%, 2%, 3%, 4% and 5%) on the growth and physiological characteristics of stress resistance in ryegrass (*Lolium perenne* L.) roots. The results showed that: (1) the root growth was not affected by low dosages of GO (1% and 2%), but it was significantly inhibited by high dosages of GO (3%–5%). (2) No significant differences were observed in root volume and biomass between 1% GO treatment and the control. With the increase of GO dosage, root volume and biomass of ryegrass decreased. Root dry weight was the lowest under 5% GO treatment, which was decreased by 22.64% compared with the control. (3) 1% GO treatment did not affect the activities of protective enzymes and malondialdehyde (MDA) content. The activities of POD, SOD and CAT enzymes was higher than that of the control with increasing GO dosage, and MDA content also increased significantly. (4) When the dosage of GO exceeded 1%, the root activity of ryegrass significantly decreased. The lowest value was recorded under 5% GO treatment, which was 35.07% lower than that of the control. The findings suggest that low dosages of GO could not affect root growth of ryegrass, while high dosages of GO could induce oxidative stress on roots, resulting in root damage.

收稿日期: 2020-09-21; 修改稿收到日期: 2020-11-19

基金项目: 国家自然科学基金(31870484)

作者简介: 苏 航(1996—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事植物生理生态学研究。E-mail: 2991657749@qq.com

* 通信作者: 赵树兰, 研究员, 硕士生导师, 主要从事污染生态学研究。E-mail: zhaosl_tjnu@126.com

Key words: graphene oxide; ryegrass root; stress resistance; physiological characteristics; oxidative stress

近些年,氧化石墨烯(graphene oxide, GO)在光学、生物医学、物理化学等领域的广泛应用^[1-2],给生态环境带来的风险已成为研究新热点。研究发现^[3],GO 具有独特的物理化学特性,可以作为吸附水体中重金属污染物的新型吸附剂,因此 GO 会残留在水体中,并随着污水灌溉流入土壤。除此之外,GO 用量的急剧增加,使其在生产加工、使用运输以及废弃处理过程中,会不可避免地释放到环境中。这些进入到水体和土壤中的 GO,首先会损伤植物根系,进而对地上部分以及整个植株造成伤害^[4]。而植物在生态系统中至关重要,因此,探究 GO 对植物根系抗逆生理特性的影响是很有必要的。

目前,已有较多研究报道了氧化石墨烯对动物、植物以及微生物生理生化方面的影响^[5]。GO 对生物会产生物理损伤,由于其边缘通常较为尖锐,通过与细胞的相互碰撞,会造成细胞表面受损,破坏细胞的完整性^[6]。另外,GO 能包裹藻类细胞,进入细胞,损坏细胞器,使细胞分裂减少,染色质聚集,同时抑制细胞生长,破坏抗氧化酶^[7]。GO 具有大的比表面积,与细胞接触后可使活性氧(ROS)增加,从而增加细胞氧化应激反应,还可能攻击 DNA、蛋白质和细胞膜,导致细胞损伤而产生毒性^[8-9]。Zhang 等^[10]研究表明,GO 能诱导产生大量的自由基和生成氧化细胞色素 C 的中间物,从而产生毒性。Yang 等^[11]发现,低浓度处理下 GO 对小鼠红细胞形态和细胞壁完整性略有影响,在高浓度处理下,部分红细胞膜破裂。

GO 对植物影响的研究大多集中在水培条件下地上部植株的生长情况等方面。Lin 等^[12]的研究表明,GO 对苔藓的生长具有一定的影响,苔藓的叶绿素 a 含量上升,叶绿素 b 含量下降,导致叶绿素 a/b 上升,光合作用效率下降,生物量含量降低。Chen 等^[13]报道,高浓度的 GO 处理导致小麦幼苗的形态严重丧失,苗长和生物量减少,明显破坏植物组织结构。Begum 等^[14]的研究发现,GO 显著抑制了白菜、番茄和红菠菜的生长及生物量。也有报道,适量的 GO 会增加根长度、叶面积、叶片数量,在花蕾的形成方面具有积极的作用^[15]。在抗氧化损伤方面,多数研究也将重点放在植物地上部分。Zhang 等^[16]的研究指出,GO 降低了水稻地上生物量和芽伸长,对植物造成氧化损伤。GO 对植物根部的影响有少量报道,Cheng 等^[17]研究表明,在 GO 处理下,植物根长变短,根鲜重减少,MDA 含量没有显

著变化。Xie 等^[18]的研究发现,25 mg/L GO 处理会抑制根的发育,产生氧化胁迫。关于土壤中添加 GO 对植物根部抗逆生理特性的研究还较少见。

本研究将不同比例的 GO 添加到土壤中,通过根系生长指标、抗氧化酶活性、丙二醛含量和根系活力等的测定,来探究 GO 对黑麦草根系生长和抗逆生理特性影响,为揭示 GO 对植物根系的毒性作用机制提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验用土壤取自天津师范大学校园内 0~20 cm 的表层土壤。基本性质:pH 7.45,盐含量 0.1%,有机质含量 4.68%,土壤碱解氮 137.42 mg·kg⁻¹,速效钾 71.63 mg·kg⁻¹,有效磷 22.03 mg·kg⁻¹,饱和含水量 0.56 mL·kg⁻¹,容重 0.87 g·cm⁻³。黑麦草种子购于宿迁卉艺种业有限公司,品种名为爱森特(Accent)。氧化石墨烯(GO)购自苏州恒球石墨烯科技有限公司,为褐黄色粉末,平均厚度在 3.4~7 nm,片层直径在 10~50 μm,比表面积为 100~300 m²·g⁻¹。

1.2 试验设计

以黑麦草为培养对象,将种子做催芽处理,待种子萌发后转移到不同 GO 浓度的土壤中进行培养,每盆播种 100 粒。

将 GO 按一定质量比(1%、2%、3%、4% 和 5%)添加到 420 g 土壤中,混合均匀,装入直径 7 cm、高 8 cm 的花盆,以不添加 GO 的为对照(CK),共 6 个处理,每个处理 4 次重复。植物在室内栽培,培养期间保证充足的水分供应,使含水量保持在最大持水量的 60%。光照为透入室内的自然光,光照强度在 623~33 020 Lx。在培养过程中定期调换花盆位置,以确保每盆植物都处于同等的光照条件下。培养期间的环境温度为 20~27 °C,相对湿度 17%~54%,共培养 40 d。

1.3 指标测定

1.3.1 生长指标的测定 根系体积的测定:采用排水法。向量筒中加入适量的水并记下刻度值,然后将根的表面水分吸净,浸没于量筒中,用玻璃棒小心搅动以排除根间的气泡,再记下刻度值,两次刻度值之差即为根的体积。

根生物量的测定:植株根用清水洗净,用滤纸吸

去水分后,称重,为根鲜重,之后于 108 ℃ 下杀青 20 min,80 ℃ 烘干至恒质量,称量,为根干重。

1.3.2 保护酶活性的测定 酶提取液的制备:在每个盆栽的相同部位,取 0.5 g 新鲜的植物根,剪成小段放于研钵中,加入 3 mL 提取液(由 pH 7.0 的 50 mmol · L⁻¹ 磷酸缓冲液和 1 mmol · L⁻¹ EDTA 配制而成)和石英砂,将研钵放置于冰盒中,进行研磨。研磨完全后将研磨液倒入离心管中,再用 2 mL 提取液洗涤研钵,同样转移至离心管中,4 ℃ 10 000 r · min⁻¹ 离心 20 min。上清液用于酶活性的测定。

POD 活性用愈创木酚法测定^[19]:在烧杯中依次加入 50 mmol · L⁻¹ 的磷酸缓冲液(pH 7.0)、0.1 mmol · L⁻¹ EDTA、2% H₂O₂ 和 50 mmol · L⁻¹ 愈创木酚,配制反应溶液。取一石英比色皿加入磷酸缓冲液,用于分光光度计调零。另一石英比色皿加入 2.9 mL 反应混合液和 0.1 mL 酶提取液并混匀,测定 OD₄₇₀。取 0.5~3.5 min 时间段(反应时长共计 3 min),每 30 s 读数 1 次计算酶活性。以每分钟 OD₄₇₀ 增加 0.01 的酶量为 1 个酶活单位,单位为 U · min⁻¹ · g⁻¹。

CAT 活性采用紫外分光光度法测定^[20]:先在烧杯中加入 0.1 mol · L⁻¹ H₂O₂,再加入 50 mmol · L⁻¹ 磷酸缓冲液(pH 7.0),混匀备用。在一个比色皿中加入 3 mL 磷酸缓冲液调零,另一比色皿加入 2.9 mL 反应混合液和 0.1 mL 酶提取液,混匀,在波长 240 nm 下测定吸光度,取 0.5~3.5 min 时间段,每隔 30 s 读数 1 次。以每分钟 OD₂₄₀ 减少 0.1 的酶量为 1 个酶活单位,单位为 U · min⁻¹ · g⁻¹。

SOD 活性采用比色法测定^[21]:依次在比色皿中加入 3.0 mL 50 mmol · L⁻¹ 磷酸缓冲液(pH 7.8)、0.6 mL 130 mmol · L⁻¹ 甲硫氨酸、0.6 mL 750 μmol · L⁻¹ 氮蓝四唑、0.6 mL 0.1 mmol · L⁻¹ EDTA、0.2 mL 酶提取液、1.0 mL 蒸馏水和 0.6 mL 20 μmol · L⁻¹ 核黄素,混匀,将对照管放置于暗处,避免光的照射。其他各管置于 30 ℃,光照为 4 000 Lx 日光灯下,进行 20 min 照射,使其发生化学反应,20 min 后用黑布盖住试管,使反应终止。避光处理组作为对照管进行调零,在波长 560 nm 下测定吸光度。以降低 50% 的 NBT 光还原反应为 1 个酶活单位,单位为 U · g⁻¹。

1.3.3 丙二醛含量的测定 丙二醛含量采用硫代巴比妥酸法测定^[22]:取 0.5 g 植物根,剪碎,加入 10% TCA 2 mL,石英砂研磨;再加入 TCA 8 mL 研磨,匀浆液 4 000 g 离心 10 min,取上清液,即为

样品提取液。取提取液 4 mL,加 0.6% TBA 4 mL,混匀,在 100 ℃ 水浴煮沸 15 min,迅速冷却后离心。对照管以 4 mL 水代替提取液。用紫外分光光度计分别测定上清液在 450、532 和 600 nm 处的吸光度值,计算 MDA 浓度,折算成单位鲜重组织中的 MDA 含量(μmol · g⁻¹)。

1.3.4 根系活力的测定 根系活力的测定采用氯化三苯基四氮唑(TTC)法^[23]:称取 1 g 植物根,在 37 ℃ 下置于盛有 10 mL 等体积 0.4% TTC 和 66 mmol · L⁻¹ 的磷酸缓冲溶液(pH 7.0)混合液中,保温 3 h,然后加入 2 mL 1 mol · L⁻¹ 的硫酸终止反应。取出根,吸干水分,切根,将已显色的根放入试管中,再加入 10 mL 甲醇,使根尖完全浸于甲醇中,在室温下静置 24 h,直到根部呈白色,测定 485 nm 波长下的 OD 值,计算 TTC 的还原量(μg · g⁻¹ · h⁻¹)。

1.4 数据处理

所得数据以平均值±标准差(n=4)表示。采用 SPSS 20.0 软件,对不同 GO 处理下的样本差异进行单因素方差分析(One-way ANOVA),并采用 Tukey 法,在 P=0.05 水平下进行数据的差异显著性检验。

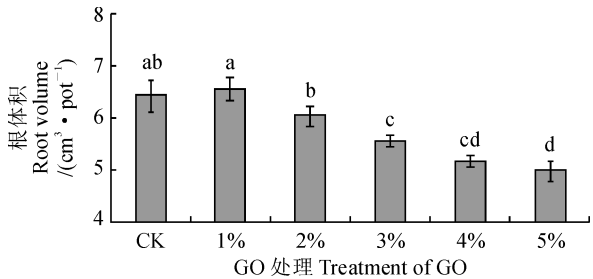
2 结果与分析

2.1 GO 对黑麦草根体积的影响

如图 1 所示。1% GO 处理下,黑麦草根体积最大,但与对照差异不显著(P>0.05);2% GO 处理略低于对照(P>0.05)。随着 GO 比例的增加,根体积显著降低(P<0.05),在 5% GO 处理下达到最小值。

2.2 GO 对黑麦草根鲜重与干重的影响

如图 2 所示,与对照相比,1% 和 2% GO 处理对黑麦草根系鲜重和干重没有显著影响(P>0.05),但 3%~5% GO 处理对根鲜重与干重均具有



不同字母表示处理间差异显著(P<0.05);下同

图 1 GO 对黑麦草根体积的影响

Different letters indicate significant differences among treatments (P<0.05); The same as below

Fig. 1 Effect of GO on root volume of ryegrass

显著的抑制作用($P<0.05$),且抑制作用随 GO 含量增加而增大。

2.3 GO 对黑麦草根系保护酶活性和丙二醛含量的影响

2.3.1 GO 对 POD 活性的影响 由图 3,A 可知,1%GO 处理组黑麦草根系 POD 活性与对照相比无显著差异($P>0.05$);当 GO 添加比例超过 1%时,POD 活性均显著高于对照($P<0.05$),且随 GO 比例增加呈现出逐渐升高趋势。

2.3.2 GO 对 SOD 活性的影响 从图 3,B 可知,1% GO 处理 SOD 活性与对照无显著差异($P>0.05$);当 GO 比例大于 1%时,SOD 活性均显著高于对照($P<0.05$)。随 GO 比例增加,SOD 活性先增加后下降,4% GO 处理下达到了最大。

2.3.3 GO 对 CAT 活性的影响 如图 3,C 所示,1%和 2% GO 处理对 CAT 活性无显著影响($P>$

0.05);当 GO 的添加比例达到 3% 时,CAT 活性较对照均显著增加($P<0.05$),在 3% GO 处理 CAT 活性最大,较对照增加了 32.70%。

2.3.4 GO 对 MDA 含量的影响 如图 3,D 所示,2%~5% GO 处理 MDA 含量显著高于对照($P<0.05$);且随着 GO 添加量的增加,含量逐渐升高,在 5% GO 处理最大。

2.4 GO 对黑麦草根系活力的影响

如图 4 所示,黑麦草根系活力随着 GO 添加含量的增加而逐渐下降。GO 添加比例大于 1%时,根系活力均显著低于对照($P<0.05$),5% GO 处理根系活力较对照下降了 35.07%。

3 讨 论

植物根系是吸收水和养分的主要器官,可以为地上组织输送水分和营养物质。根系越发达,植物所

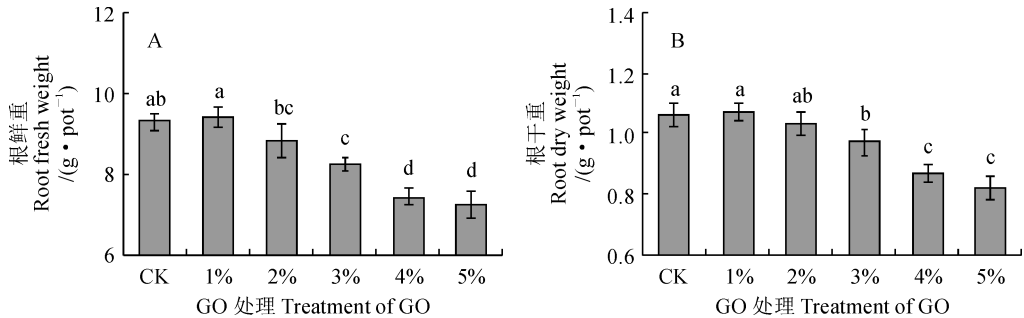


图 2 GO 对黑麦草根鲜重(A)与干重(B)的影响
Fig. 2 Effects of GO on fresh weight (A) and dry weight (B) of ryegrass roots

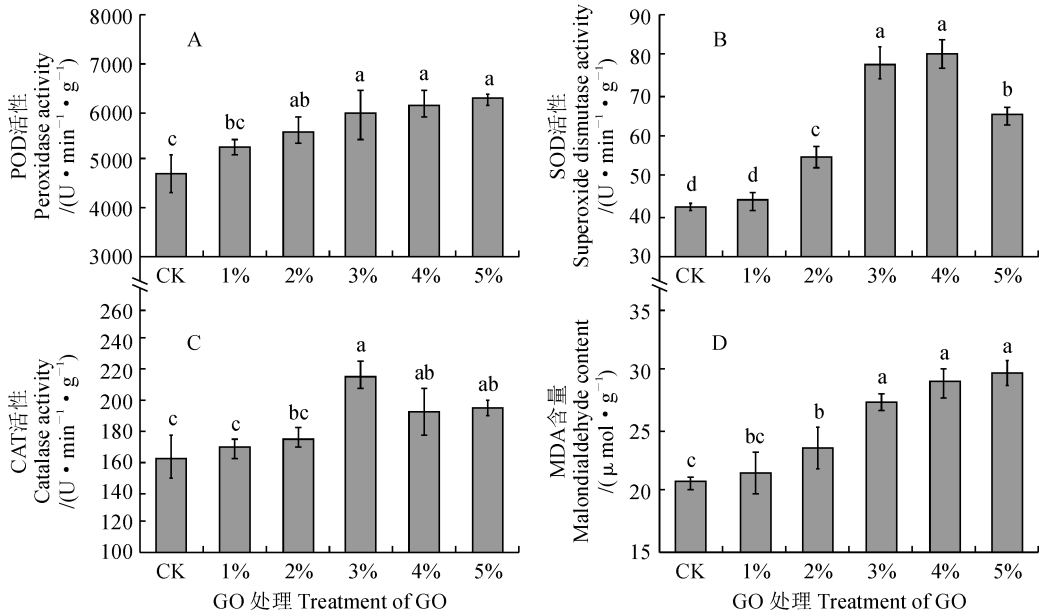


图 3 GO 对黑麦草根系 POD(A)、SOD(B)、CAT(C)活性和 MDA 含量(D)的影响
Fig. 3 Effects of GO on the activities of POD (A), SOD (B), CAT (C) and MDA content (D) of roots

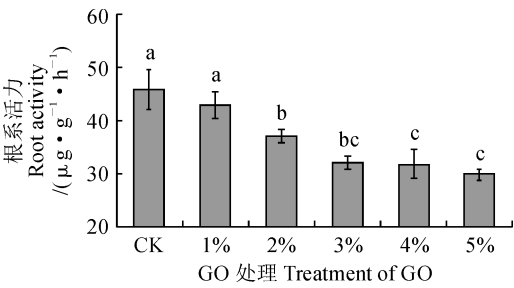


图 4 GO 对黑麦草根系活力的影响
Fig. 4 Effect of GO on root vigor of ryegrass

吸收的营养元素越多,其自身的生长发育越好^[24]。本研究中,1%和2% GO 对黑麦草根系生长没有显著影响,当 GO 添加量达到3%时,根体积、根生物量和根系活力均显著降低,且随 GO 添加量的增加逐渐减小,说明 GO 会抑制黑麦草根系的生长,从而影响整个植株的生长发育,且随着施加量的增加,抑制作用也逐渐增强,存在着一种剂量效应。有研究报道^[25],GO 会对根系结构造成损伤,经 GO 处理过的种子,其幼苗的根分生组织细胞中能检测到 GO 的存在,且根部形成了规则的孔隙结构;高浓度的 GO 处理后会使得根和茎长、茎鲜重下降。Shen 等^[26]的研究同样也发现,高浓度的 GO 会影响植株根部的生长,包括抑制了植株侧根的发育。也有研究发现 GO 会在植株幼苗的根细胞中积累^[27]。Chen 等^[28]研究也表明,小麦可以通过根毛吸收 GO,在高浓度 GO 处理下根细胞受损。这些均与本研究的结果一致。GO 抑制植物根系生长的原因可能有两个:其一,GO 会对根细胞产生物理伤害,对其细胞结构造成损伤;其二,植物根系会吸收并积累 GO,当浓度过高就会使细胞受损。另外,还有研究报道^[29],GO 会对植物根系的养分吸收造成影响,不仅降低了根吸收面积和根系活性,而且抑制了植物根部硝酸盐转运蛋白的表达,因此,GO 会影响根部吸收硝酸盐的速率,从而导致植物在逆境中不能很好地积累硝酸盐。

SOD 是生物体内重要的抗氧化酶,能清除生物

体内自由基,最先与 $O_2^{\cdot -}$ 发生作用,把 $O_2^{\cdot -}$ 歧化生成 H_2O_2 和 O_2 ,所以,SOD 的诱导与植株体内 $O_2^{\cdot -}$ 的含量有着密切关系。POD 和 CAT 的反应底物是 H_2O_2 ,两者都能够清除植物体内产生的 H_2O_2 ,在抑制植物膜脂过氧化方面发挥着重要作用^[30]。MDA 含量可间接反映植物细胞膜脂过氧化程度,MDA 含量越高,表明膜透性越大,膜脂过氧化程度越强^[31]。本研究中,GO 添加量达到3%时,SOD、POD 和 CAT 活性均显著增加,说明 GO 诱导植物根部产生了大量活性氧,激活了根系的保护酶防御系统。同时,在2%GO 处理及以上,MDA 含量也显著升高,表明高含量 GO 处理下黑麦草根系受到了氧化胁迫。Li 等^[32]研究发现,经过 GO 处理的苹果根系 SOD、POD、CAT 活性增加。Hatami 等^[25]的研究也获得了相似的结果,GO 会造成植物保护酶活性及 MDA 含量升高,进而对植物产生氧化胁迫。Vochita 等^[27]的研究发现,500~2 000 $mg \cdot L^{-1}$ GO 的处理表现出剂量效应,GO 浓度在 500 $mg \cdot L^{-1}$ 时 SOD、POD、CAT 的活性达到最大值,对小麦产生了氧化胁迫损伤;GO 浓度在 1 000 和 2 000 $mg \cdot L^{-1}$ 时抑制了酶活性的增高,加剧了氧化损伤。本研究在4%GO 处理下 SOD 活性达到了最大值,5%GO 处理又出现下降,可能是因为高添加量下生成的活性氧不能被及时清除而导致了酶失活。碳纳米材料会使植物体内 ROS 增多,当抗氧化酶不足以清除 ROS 时,残余的 ROS 会使膜质过氧化^[33]。因此,GO 很有可能通过诱导植物体内产生 ROS,致使膜质过氧化,进而使 MDA 含量增加,最终使植物产生氧化损伤。

综上所述,低添加量 GO 对黑麦草根系生长发育、保护酶活性、丙二醛含量和根系活力没有显著影响,而高添加量 GO 会抑制根系生长,降低了根系活力,提高了 SOD、POD 和 CAT 酶活性,使 MDA 含量升高,对黑麦草产生氧化胁迫,使植物根系受到损伤。

参考文献:

[1] MORALES-NARVÁEZ E, MERKOÇI A. Graphene oxide as an optical biosensing platform: a progress report[J]. *Advanced Materials*, 2019, **31**(6): 1 805-8043.

[2] SONG Y J, QU K G, ZHAO C, *et al.* Graphene oxide: intrinsic peroxidase catalytic activity and its application to glucose detection [J]. *Advanced Materials*, 2010, **22**(19): 2 206-2 210.

[3] PENG W J, LI H Q, LIU Y Y, *et al.* a review on heavy metal ions adsorption from water by graphene oxide and its composites [J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2017, **230**: 496-504.

[4] SEABRA A B, PAULA A J, DE LIMA R, *et al.* Nanotoxicity of graphene and graphene oxide[J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2014, **27**(2): 159-168.

[5] FENG X L, CHEN Q Y, GUO W H, *et al.* Toxicology data of graphene-family nanomaterials: an update[J]. *Archives of Toxicology*, 2020, **94**(6): 1 915-1 939.

- [6] SENGUPTA I, BHATTACHARYA P, TALUKDAR M, *et al.* Bactericidal effect of graphene oxide and reduced graphene oxide: influence of shape of bacteria[J]. *Colloid and Interface Science Communications*, 2019, 28: 60-68.
- [7] HU X G, LU K C, MU L, *et al.* Interactions between graphene oxide and plant cells: regulation of cell morphology, uptake, organelle damage, oxidative effects and metabolic disorders[J]. *Carbon*, 2014, 80: 665-676.
- [8] MIRALLES P, CHURCH T L, *et al.* Toxicity, uptake, and translocation of engineered nanomaterials in vascular plants[J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(17): 9 224-9 239.
- [9] JIA P P, SUN T, *et al.* Nanotoxicity of different sizes of graphene (G) and graphene oxide (GO) *in vitro* and *in vivo*[J]. *Environmental Pollution (Barking, Essex)*, 2019, 247: 595-606.
- [10] ZHANG W D, WANG C, LI Z J, *et al.* Unraveling stress-induced toxicity properties of graphene oxide and the underlying mechanism[J]. *Advanced Materials*, 2012, 24(39): 5 391-5 397.
- [11] YANG K, WAN J M, ZHANG S, *et al.* *In vivo* pharmacokinetics, long-term biodistribution, and toxicology of PEGylated graphene in mice[J]. *ACS Nano*, 2011, 5(1): 516-522.
- [12] LIN X W, CHEN L Y, HU X, *et al.* Toxicity of graphene oxide to white moss *Leucobryum glaucum* [J]. *RSC Adv*, 2017, 7(79): 50 287-50 293.
- [13] CHEN J N, YANG L, LI S L, *et al.* Various physiological response to graphene oxide and amine-functionalized graphene oxide in wheat (*Triticum aestivum*) [J]. *Molecules*, 2018, 23(5): 1 104.
- [14] BEGUM P, IKHTIARI R, FUGETSU B. Graphene phytotoxicity in the seedling stage of cabbage, tomato, red spinach, and lettuce[J]. *Carbon*, 2011, 49(12): 3 907-3 919.
- [15] PARK S, CHOI K S, KIM S, *et al.* Graphene oxide-assisted promotion of plant growth and stability[J]. *Nanomaterials*, 2020, 10(4): 758.
- [16] ZHANG P, GUO Z L, LUO W H, *et al.* Graphene oxide-induced pH alteration, iron overload, and subsequent oxidative damage in rice (*Oryza sativa* L.): a new mechanism of nanomaterial phytotoxicity [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(6): 3 181-3 190.
- [17] CHENG F, LIU Y F, LU G Y, *et al.* Graphene oxide modulates root growth of *Brassica napus* L. and regulates ABA and IAA concentration[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2016, 193: 57-63.
- [18] XIE L L, CHEN F, DU H W, *et al.* Graphene oxide and indole-3-acetic acid cotreatment regulates the root growth of *Brassica napus* L. via multiple phytohormone pathways[J]. *BMC Plant Biology*, 2020, 20: 101.
- [19] OMRAN R G. Peroxide levels and the activities of catalase, peroxidase, and indoleacetic acid oxidase during and after chilling cucumber seedlings[J]. *Plant Physiology*, 1980, 65(2): 407-408.
- [20] SINGH B K, SHARMA S R, SINGH B. Antioxidant enzymes in cabbage: variability and inheritance of superoxide dismutase, peroxidase and catalase[J]. *Scientia Horticulturae*, 2010, 124(1): 9-13.
- [21] WANG Y F, PAN F B, WANG G S, *et al.* Effects of biochar on photosynthesis and antioxidative system of *Malus hupehensis* Rehd. seedlings under replant conditions[J]. *Scientia Horticulturae*, 2014, 175: 9-15.
- [22] SUNDAR D, PERIANAYAGUY B, *et al.* Localization of antioxidant enzymes in the cellular compartments of *Sorghum* leaves[J]. *Plant Growth Regulation*, 2004, 44(2): 157-163.
- [23] 郑 坚, 陈秋夏, 金 川, 等. 不同 TTC 法测定枫香等阔叶树容器苗根系活力探讨[J]. *浙江农业科学*, 2008, 49(1): 39-42.
- [24] GAO M L, SONG Z G. Toxicity of cadmium to wheat seedling roots in the presence of graphene oxide [J]. *Chemosphere*, 2019, 233: 9-16.
- [25] HATAMI M, HOSSEINI S M, GHORBANPOUR M, *et al.* Physiological and antioxidative responses to GO/PANI nanocomposite in intact and demucilaged seeds and young seedlings of *Salvia mirzayanii* [J]. *Chemosphere*, 2019, 233: 920-935.
- [26] SHEN S S, LIU Y F, WANG F, *et al.* Graphene oxide regulates root development and influences IAA concentration in rice[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2019, 38(1): 241-248.
- [27] VOCHITA G, OPRICA L, GHERGHEL D, *et al.* Graphene oxide effects in early ontogenetic stages of *Triticum aestivum* L. seedlings[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 181: 345-352.
- [28] CHEN L Y, WANG C L, LI H L, *et al.* Bioaccumulation and toxicity of ¹³C-skeleton labeled graphene oxide in wheat [J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(17): 10 146-10 153.
- [29] WENG Y N, YOU Y, LU Q, *et al.* Graphene oxide exposure suppresses nitrate uptake by roots of wheat seedlings[J]. *Environmental Pollution (Barking, Essex)*, 2020, 262: 114 224.
- [30] 张志忠, 奚玉培, 韩晓云, 等. 自毒害对甜瓜瓜种子萌发与幼苗保护酶活性和转化组的影响 [J]. *西北植物学报*, 2019, 39(12): 2 197-2 206.
- ZHANG Z Z, XI Y P, HAN X Y, *et al.* Effects of autotoxicity on seed germination, protective enzyme activity and transcriptome of melon seedlings [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2019, 39(12): 2 197-2 206.
- [31] GILL S S, TUTEJA N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2010, 48(12): 909-930.
- [32] LI F H, SUN C, LI X H, *et al.* The effect of graphene oxide on adventitious root formation and growth in apple[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018, 129: 122-129.
- [33] TAN X M, LIN C, FUGETSU B. Studies on toxicity of multi-walled carbon nanotubes on suspension rice cells[J]. *Carbon*, 2009, 47(15): 3 479-3 487.