可解释机器学习加速纳米材料种子处理以缓解环境胁迫

Hengjie Yu[a, b]、Dan Luo[c]、Sam F. Y. Li[d]、Maozhen Qu[a, b]、Da Liu[a, b]、Yingchao He[a, b]和 Fang Cheng[a, b*]。

[a]浙江大学生物系统工程与食品科学学院，杭州 310058，中国

[b]浙江省农业智能装备与机器人重点实验室，杭州 310058，中国

[c]康奈尔大学生物与环境工程系，伊萨卡，纽约州 14853，美国

[d]新加坡国立大学化学系，新加坡 117543，3 Science Drive 3

***电子邮箱：**fcheng@zju.edu.cn

摘要

作物持续受到不同环境条件的挑战。纳米材料种子处理是缓解作物环境胁迫的一种经济且环保的解决方案。本研究采用 56 种种子纳米引发处理来缓解玉米的环境胁迫。筛选出的七种纳米引发处理使盐胁迫和复合热旱胁迫下的胁迫抗性指数（SRI）分别显著提高 13.9% 和 12.6%。代谢组学数据表明，SRI 值最高的氧化锌纳米引发处理主要调控氨基酸代谢、次生代谢物合成、

碳水化合物代谢和翻译相关通路。由于纳米材料种类繁多，且纳米材料与植物之间的相互作用十分复杂，理解种子纳米引发的作用机制仍然困难。基于纳米引发数据，我们提出一种基于可解释机器学习的可解释结构—活性关系（ISAR）方法，用于预测和理解其胁迫缓解效应。我们结合机器学习的事后解释方法和基于模型的解释方法，发挥两者的互补优势，为研究人员或政策制定者提供更具启发性或可信度的结果。研究确定纳米颗粒的浓度、尺寸和ζ电位是与盐胁迫下根干重相关的主导因素，并解释了这些因素的影响及相互作用。此外，我们还开发了一种基于网络的交互式工具，用于提供预测层面解释，并收集特定纳米引发处理的更多细节。本研究为加速纳米材料的农业应用提供了一个前景良好的框架，也可能对纳米安全性评估作出重要贡献。**关键词：**环境胁迫、金属氧化物纳米材料、种子纳米引发、机器学习、模型解释

1. 引言

作物不断受到各种环境条件的挑战，例如干旱、盐分和极端温度 (Ahuja 等，2010年；Ioannou 等，2020年)。为缓解环境胁迫，人们测试了多种纳米颗粒田间应用方式 (Kah 等，2019年；Zhao 等，2020年)，例如玉米的干旱胁迫（铜纳米颗粒） (Van Nguyen 等，2022年)、粒用高粱的高温胁迫（硒纳米颗粒） (Djanaguiraman 等，2018年)以及蚕豆的盐胁迫（TiO_2 纳米颗粒） (Abdel Latef 等，2018年)。据估计，与传统同类产品相比，纳米农用化学品的中位效率提高了 ~20-30% (Kah 等，2018年)。与田间应用相比，纳米材料用量更少且环境暴露得以减少，因此采用纳米材料进行种子引发是一种新颖、经济且环保的方法 (De La Torre-Roche 等，2020年；Hofmann 等，2020年)。种子纳米引发可通过以下方式促进作物在环境胁迫下生长：

提高光合色素水平 (Abdel Latef 等，2017年)、增强抗氧化酶活性 (Shah 等，2021年)、减少活性氧（ROS）的产生 (Rai-Kalal 等，2021年)并调节 H_2O_2 信号网络 (Rai-Kalal 等，2021年)。据我们所知，尽管目前大多数纳米引发研究仅关注单一环境胁迫(Hussain 等，2019年；Khan 等，2020年；Rizwan 等，2019年)，我们假设种子纳米引发可能具有缓解多种环境胁迫的巨大潜力，因为其背后存在若干共同机制。

定量/定性构效关系（定量构效关系）是成熟的计算方法，可用于化学设计和早期危害预警 (Muratov 等，2020年；Nongonierma 等，2018年)。机器学习适用于处理存在非线性和相互作用的定义不明确问题，可用于建立描述符与目标之间的关系。然而，要从性能良好的模型中提取信息并建立信任，其解释仍颇具挑战。由于可解释机器学习能够揭示模型学到的内容，因此日益受到关注；其解释技术可分为基于模型的方法和事后解释方法 (Murdoch 等，2019年)。基于模型的解释通常由简单且易于解释的模型生成，但这可能导致预测准确度较低。值得注意的是，少数自解释模型虽能达到可接受的性能，但其模型解释并不直观，例如决策树模型的树深度过大，或 RuleFit 算法包含过多决策规则。事后解释方法通过描述训练模型学到的关系来进行解释，而不改变模型；这类方法可以基于复杂且性能良好的模型。然而，许多事后解释方法相对较新，仍有诸多问题有待解答。此外，要确定哪种方法能够全面捕捉模型行为颇具挑战。因此，更可取的是整合不同的解释方法，包括针对同一解释任务整合不同方法，以及整合基于模型的解释与事后解释。

本研究采用多种类金属和金属氧化物纳米颗粒（SiO_2, CeO_2, 氧化铜、Fe_3O_4, 氧化锌、

α-Fe_2O_3, 和γ-Fe_2O_3 不同尺寸的纳米颗粒）作为不同浓度的引发剂，用于缓解玉米的环境胁迫；选择玉米是因为它是最重要的主粮作物之一。盐胁迫、干旱胁迫和热胁迫是限制玉米产量的主要因素（Yuan 等，2019年；Zhao 等，2017年）。此外，氧化物纳米颗粒是应用最广泛的人工合成纳米材料之一（Chavali 和 Nikolova，2019年；Tsugita 等，2017年），且其获取成本相对较低，这对农业应用非常重要。本研究测试了十四种不同浓度的氧化物纳米材料。收集了十一项生物学终点指标，以考察种子纳米引发对盐胁迫下萌发的影响。随后，选取表现良好的处理，进一步研究其在复合热旱胁迫下的影响。通过代谢组学分析研究小分子代谢物，并深入探究种子纳米引发缓解胁迫的机制。此外，利用盐胁迫下种子纳米引发的数据，我们提出了一种可解释的构效关系（ISAR）方法，该方法整合了机器学习解释方法，以识别重要因素并展示这些因素如何影响胁迫缓解效应。我们建立了轻量梯度提升机（LightGBM）、RuleFit 和决策树模型，作为复杂且自解释的模型，用于提供事后解释和基于模型的解释。此外，我们将所建立的模型及其局部解释部署在一个在线交互式网站上，感兴趣的读者可通过预测层面解释，进一步了解具体的纳米引发处理（或定制处理）。

2. 材料与方法

2.1 材料与化学试剂

氧化锌（30±10 和 50±10 nm）、CeO_2 （20–50 nm）、TiO_2 （20 和 40 nm）、氧化铜（40 nm）、α-Fe_2O_3 （30 nm）、Fe_3O_4 （20 nm）和 SiO_2 （20±5 和 50±5 nm）纳米颗粒购自上海麦克林生化科技股份有限公司。氧化铜（50–100 nm）、CeO_2 （<100 nm）和 γ- Fe_2O_3 （≤50 nm）纳米颗粒购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。Fe_3O_4 （50 nm）纳米颗粒购自上海易恩化学技术有限公司。氯化钠购自国药集团化学试剂有限公司。乙酸铵（NH_4Ac）、氢氧化铵

（NH_4OH）和乙腈购自默克公司。玉米种子（品种吉祥一号）购自甘肃敦煌种业集团有限公司。试验研究中的平均萌发率为 >90%。

2.2. 纳米颗粒的表征

使用 JEOL JEM- 1400Flash 透射电子显微镜（TEM）表征纳米颗粒的尺寸和形态。采用马尔文 Zetasizer Nano ZS90，基于动态光散射（ DLS ）和激光多普勒测速法（ LDV ）技术，测量水动力直径（Z均值）、多分散指数（PdI）和ζ电位。通过超声振动（240 W，40 kHz）分散纳米颗粒，持续30 min。将铜网浸入悬浮液中并在室温下干燥，制备TEM表征样品。静置48 h后，取纳米悬浮液的上清液进行DLS和LDV测量。TEM图像见图S1；通过测量100多个纳米颗粒的尺寸，获得TEM尺寸。

2.3. 种子纳米引发处理

首先使用圆孔筛和长孔筛筛选出宽度大于 9.5 mm、厚度大于 5.5 mm 的玉米种子。随后剔除有任何形态损伤或变色的种子。将筛选出的种子浸入 70% 乙醇中 2 min，再浸入 5% 次氯酸钠溶液中 10 min，以确保表面无菌，然后用去离子水（DI water）彻底清洗。将灭菌后的种子在室温下干燥至原始重量。配制 500 毫克/升的纳米颗粒悬浮液，然后使用超声振动（240 W，40 kHz）分散 30 min。随后将纳米悬浮液稀释至不同浓度（25、50、100、200 毫克/升），用于种子纳米引发。将种子置于离心管中的纳米颗粒悬浮液内，在黑暗条件下引发 12 h，并将离心管水平放置于摇床上（150 r/min，26±1℃）。种子重量与悬浮液体积之比为 1:5 g/mL。以 H_2O 引发处理作为对照组。引发后的种子用去离子水清洗

3 次，每次 3 min，然后在室温下干燥至原始重量。干燥后的种子储存在 4°C 的冰箱中。

2.4. 盐分和复合热旱胁迫下的种子萌发试验 s

将八粒种子播种于方形盆中，播种深度为 2 cm（盆尺寸为 10 cm×10 cm×7 cm），盆中装有约 265 g 经清洗并风干的蛭石。播种后加入 100 mL 的 1/4 Hoagland 营养液。随后 3 天内每天加入 40 mL 的 1/4 Hoagland 营养液，此后改加 1/2 Hoagland 营养液（Hoagland 等人，1950年）。用于第 1、3、5 和 7 天的营养液中含有 150 mM 氯化钠，以施加盐胁迫。每种处理设三个重复。将方形盆置于气候箱中，光周期为 14 小时光照、10 小时黑暗（昼/夜温度为 26/22°C，相对湿度为 60%，光照强度为 45,000 lx），并每天更换摆放位置。

选取在缓解盐胁迫影响方面表现较好的处理，研究其在复合热旱胁迫下的效果。播种和营养液的使用与盐胁迫处理一致，但不添加氯化钠。培养四天后，将气候箱参数调整为昼/夜温度 40/32°C，相对湿度 50%。虽然每日浇水量没有改变，但由于水分蒸发增加，植物遭受了干旱胁迫。再过三天后，收获植物并测定了十一项生物学终点指标。

2.5. 生物学终点指标收集与统计分析

培养七天后，获得了包括叶绿素含量、叶面积、茎长、根、茎、叶鲜重和干重、根冠比以及 SRI 在内的十一项生物学终点指标，以反映种子纳米引发后玉米种子萌发过程中胁迫的缓解情况。在收获前约 2 小时，使用 SPAD-502叶绿素仪测定叶片中的叶绿素含量。用水清洗幼苗根系，以去除残留的培养基；随后将幼苗置于自封袋中，并放入 4°C 冰箱，直至数小时后进行进一步测量。使用尺子测量茎长。叶面积通过将叶片长度与宽度的乘积

乘以 0.75 进行计算。根冠比和 SRI 的计算方法列于补充方法 S1 和 S2 中。

三次独立实验的数值以均值± 标准差（标准差）表示。采用方差分析（ANOVA）和最小显著差异（LSD）检验，以p<0.05 水平确定处理间的统计显著性。采用 Student t 检验比较两组数值；ns、*、** 和 *** 分别表示不显著以及显著性水平为 0.1、0.05 和 0.01。统计分析使用 R 包（ agricolae）进行。

2.6. 代谢物提取和代谢组学分析

选择胁迫缓解效果最佳的处理，即氧化锌纳米引发处理（30 nm，200 mg/L），按照上述纳米引发和幼苗培育方法，分别在盐胁迫和复合热旱胁迫条件下采集样品进行代谢组学分析。从 7 日龄植物中采集玉米叶片（盐胁迫条件下采集第一片叶，复合热旱胁迫条件下采集第二片叶），立即置于液氮中冷冻 15 min，随后在 -80°C 保存备用。

将从 -80 °C 保存条件下取出的玉米组织（80 mg 叶片）在液氮中研磨成细粉。将粉末加入 1 mL 甲醇/乙腈/水（2:2:1，v/v/v）溶液中涡旋混匀，并离心 20 min（14000 g，4 °C）。随后使用真空离心机将上清液干燥。加入 100 μL 乙腈/水（1:1，v/v）溶剂重新溶解样品，然后在 4 °C、14000 g 条件下离心 15 min。随后取上清液进行液相色谱-质谱分析。

分析采用超高效液相色谱（1290 Infinity LC，安捷伦科技）联用四极杆飞行时间质谱仪（ AB Sciex TripleTOF 6600），由上海阿趣生物科技有限公司完成。样品分析采用随机进样顺序，以避免仪器波动造成的影响。在样品序列中插入质量控制（QC）样品，以评估数据的可靠性。有关分析方法、仪器参数和数据采集的更多详情见补充方法 S3。

代谢组学分析采用六个重复样本进行。数据处理和统计分析遵循既往研究中描述的流程，并作了部分调整(Yu 等，2022)。cenWave 的 m/z 设为 10 ppm；通过比较准确率 m/z 值（<10 ppm）进行代谢物的化合物鉴定。采用 R 包（ropls）对归一化数据进行 PLS-DA 和正交偏最小二乘判别分析。计算 OPLS-DA 模型中各变量的 VIP 值，以评估其对分类的贡献。采用 Student's t 检验确定两个独立样本之间差异的显著性。VIP 值>1 且 p 值小于 0.05 的代谢物被认为具有统计学显著性。

2.7. 模型建立与模型解释

从实验中收集了九项特征，包括纳米颗粒组成、TEM尺寸、TEM 尺寸标准差、形态、浓度、水动力直径、多分散指数、ζ电位和 BET 比表面积。所用数据集及预测目标（根干重）的概览见表 S1 和图 S2，数据集列于补充数据集 S1 中。根干重被等量划分为两类（低水平为 0，高水平为 1）。由于相关性过高（图 S3），删除了两项特征（TEM 尺寸标准差和多分散指数）。

由于 LightGBM模型是一种有效且高度可扩展的算法，并且能够直接处理分类特征，因此将其用作复杂模型。不过，某些解释方法需要对分类特征进行编码，因此采用标签编码。分类建模使用 Python 和两个机器学习软件包（ LightGBM 和 scikit-learn ）完成。所用主要软件和软件包的版本见表 S2。LightGBM模型的建立工作流如图 S4 所示。使用分层随机拆分法将数据集划分为训练集（75%）和测试集（25%）。基于训练集，通过网格搜索和五折交叉验证确定模型超参数（表 S3）。将数据集随机划分为训练集和测试集，共重复十次，以评估模型稳定性。使用训练集上五折交叉验证的平均 AUROC、F1 分数（加权）和准确率，以及训练集和测试集上的 AUROC、F1 分数（加权）和准确率，来确定模型性能。

模型解释工作流、事后解释和基于模型的解释均在我们先前研究所述流程的基础上进行，并作了若干调整 (Yu 等，2021；Yu 等，2022；Yu 等，2022)。简而言之，基于十次数据集划分建立了不同的 LightGBM模型，并采用 LightGBM重要性、置换重要性和 SHAP重要性来识别十个模型中的重要特征。使用特征重要性排名的平均值，确定与根干重相关性最高的特征。选择特征重要性与平均重要性一致且模型性能较好的模型，进行进一步的事后解释。采用部分依赖图（部分依赖图，PDP）、个体条件期望（个体条件期望，ICE）和 SHAP解释，对特征效应进行可视化；采用 SHAP交互效应测量并可视化特征交互。随后，将通过 LightGBM模型的事后解释识别出的重要特征用于建立自解释模型，包括决策树模型和 RuleFit 模型，以提供基于模型的解释。此外，还通过事后解释直观地解释决策树模型。SHAP主效应和 SHAP交互效应的拟合线细节见补充方法 S4。

2.8 用于局部解释的交互式网站构建

基于 Python 的“streamlit”包构建了一个交互式网站。将已建立的 LightGBM 和决策树模型部署在该网站上，用户从所用数据集中选择一个实例或自定义样本后，即可实时获得预测级别的解释。此外，网站还使用“lime”包提供了另一种局部解释方法 LIME。

3. 结果

3.1 纳米引发处理对环境胁迫的统计分析。

在盐胁迫下，种子纳米引发对萌发的影响取决于浓度、尺寸和组成。研究人员建立了胁迫抗性指数（SRI），以定量

评估纳米引发处理的胁迫耐受性，该指数综合了幼苗的十项生理参数（图 1A）。十四种纳米颗粒用于种子纳米引发后，其平均 SRI 值均高于对照组（SRI = 10.0）。其中，氧化锌（30 nm）、氧化锌（50 nm）、CeO_2（20-50 nm）和 SiO_2（50 nm）纳米颗粒处理的平均 SRI 值最高。就具体的纳米引发处理而言，氧化锌纳米引发（30 nm，200 毫克/升）的效果最佳。读者可在图 1A 中了解各项纳米引发处理的更多信息。

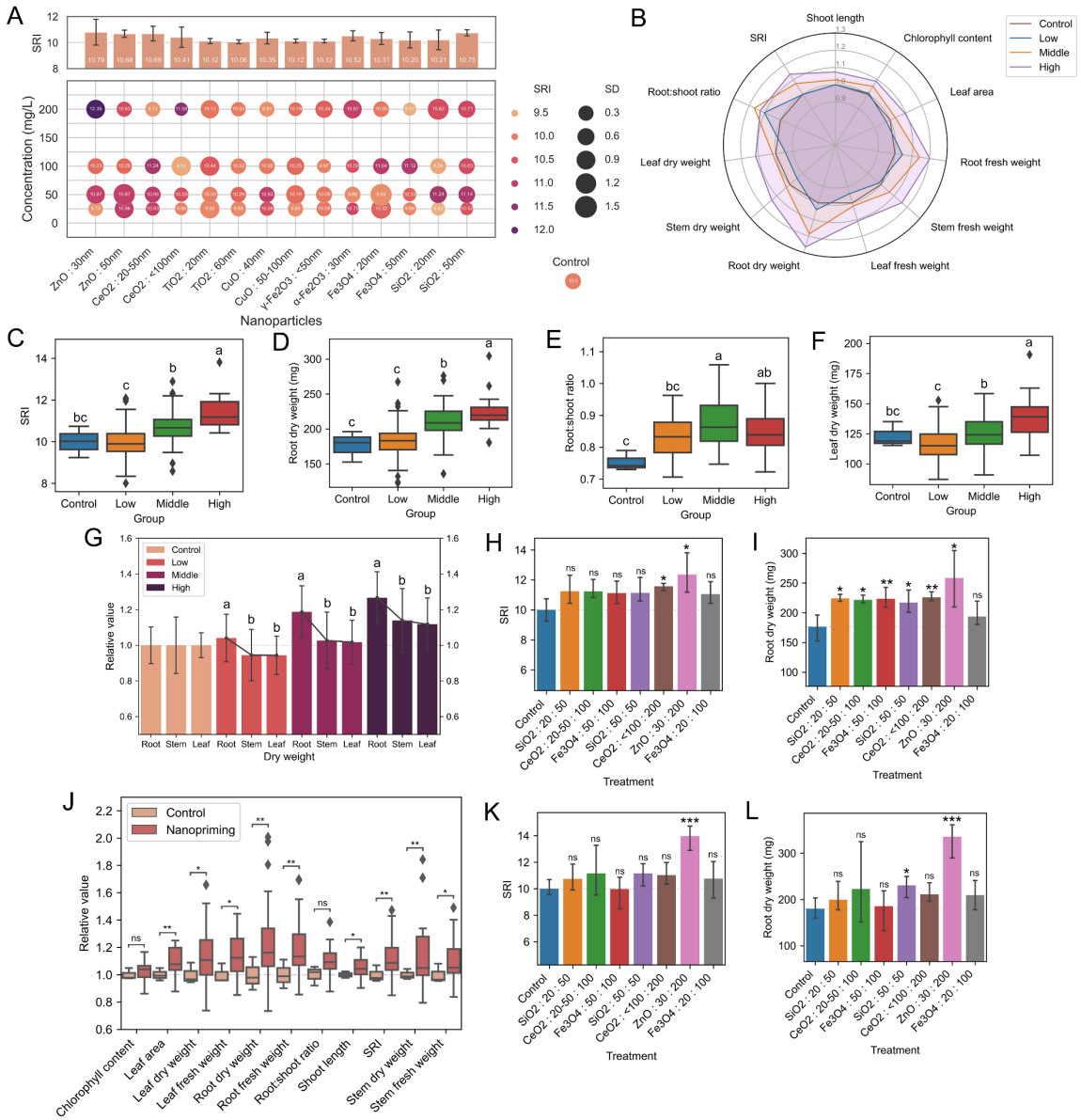


图 1. 纳米引发处理对盐胁迫和复合热旱胁迫的统计分析。A，盐胁迫下 56 种种子纳米引发处理的 SRI 值。误差棒和点大小分别表示标准差。所有纳米引发处理的平均 SRI 值以点的颜色表示。B，盐胁迫下三个纳米引发组和对照组的 11 项生物学终点指标相对值（以对照组数值为基准计算）。C-F，盐胁迫下三个纳米引发组与对照组在生物学终点指标上的差异。G，三个纳米引发组中根、茎和叶的干重相对值比较

盐胁迫下各组与对照组的比较。H、I，盐胁迫下高组中选定的七种处理之间生物学终点指标的比较。J，复合热旱胁迫下选定的纳米引发处理与对照组之间十一项生物学终点指标的比较。K、L，复合热旱胁迫下选定处理之间生物学终点指标的比较。

根据盐胁迫下的 SRI 值（表S4），将56种纳米引发处理分为三组（高组（SRI≥11）、中组（10.5≤SRI<11）和低组（SRI<10.5）），分别包含7、16和33种处理。高组中的七种纳米引发处理使 SRI 值平均提高了13.9%，相比之下，对照组的 SRI 值较低。高组和中组所有指标的平均值均高于对照组（图1B）。高组处理与对照组在所有指标上均存在显著差异（$p<0.05$）；中组处理与对照组相比，在五项指标（包括叶绿素含量、根鲜重、根干重、根冠比和茎长）上存在显著差异（图1C-F和图S5）。

在盐胁迫下，种子纳米引发后，高组和中组中根干重是各项指标中改善幅度最大的，平均分别增加了26.7%和18.7%（图1B）。根冠比是唯一一个中组平均值高于高组的指标，但由于中组茎干重的改善幅度低得多，两组之间差异不显著。此外，在所有纳米引发组中，根干重的增加幅度均显著高于茎叶干重（图1G）。

在盐胁迫下，所选纳米引发处理的十一项生物学终点指标的平均值均高于对照组（图 1H、I 和图 S6）。CeO_2（<100 nm 和 200 毫克/升）处理在八项生物学终点指标上显著高于对照组。尽管 ZnO（30 nm，200 毫克/升）处理的 SRI 值最高，且其十项生物学终点指标的平均值均高于 CeO_2 （<100 nm 和 200 毫克/升）处理，

但由于其他生物学终点指标数据的标准差较大，该处理仅在五项生物学终点指标上显著高于对照组。

我们选取了盐胁迫下高组中的七种纳米引发处理，研究其在复合热旱胁迫下的影响，并探讨种子纳米引发缓解多种环境胁迫的潜力。所选纳米引发处理的所有生物学终点指标中位数均高于对照组（图1J）。此外，除叶绿素含量和根冠比外，所选处理与对照组在九项生物学终点指标上存在显著差异。例如，所选处理使 SRI 平均提高了12.6%。在盐胁迫下 SRI 最高的处理——氧化锌（30 nm，200 毫克/升）纳米引发处理——在复合热旱胁迫下也取得了最佳效果（图1K）。该处理显著提高了十项生物学终点指标，包括 SRI（39.8%）和根干重（86.4%）（图1K、L及图S7）。因此，结果表明，种子纳米引发能够促进盐胁迫和复合热旱胁迫下的幼苗生长，其中根生物量的增幅最高。

3.2. 代 氧化锌纳米引发处理对环境胁迫的代谢组学分析

代谢组学是对全部或广泛范围内代谢物进行整体分析，这些代谢物被视为生物系统对胁迫的最终响应（Fiehn，2002年；Shulaev，2006年）。基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱（UHPLC/Q-TOF-MS）的代谢组学方法被用于测定最佳纳米引发处理——氧化锌纳米引发（30 nm，200 毫克/升）——在盐胁迫和复合热旱胁迫下正、负离子模式中的代谢响应。共鉴定出1204种代谢物，包括脂质及脂质样分子（24.92%）、苯丙素类和聚酮类（16.20%）、有机杂环化合物（11.46%）、苯类化合物（9.22%）、有机酸及其衍生物（8.47%）以及有机含氧化合物（6.40%）（图S8）。盐胁迫下的氧化锌纳米引发处理称为SN，对照组称为SC；复合热旱胁迫下的纳米引发处理称为HdN，对照组称为HdC。研究采用了监督式偏最小二乘判别分析（PLS-DA），得分图显示纳米引发

处理（SN和HdN）与各自的对照组明显分离（图S9）。7折交叉验证（CV）结果表明，这些模型稳定且可靠（表S5）。

根据正交偏最小二乘判别分析（OPLS-DA）模型中各变量的投影变量重要性（VIP）值（VIP > 1）和 Student t 检验的 p 值（$p < 0.05$），筛选出盐胁迫下的 46 种差异代谢物（图 2A 和补充数据集 S2），其中 35 种代谢物上调，11 种代谢物下调（图 S10）。随后利用京都基因与基因组百科全书（KEGG）通路图进一步分析重要的代谢通路。在盐胁迫下，SN 与 SC 在色氨酸代谢、苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成、多种次生代谢物生物合成——第 2 部分，以及氨基糖和核苷酸糖代谢方面存在显著差异（图 2B 和图 S11）。这些差异富集通路涉及的所有代谢物均上调，例如邻氨基苯甲酸和色氨酸。在复合热旱胁迫下，61 种差异代谢物中（图 2C 和补充数据集 S3），44 种上调，17 种下调（图 S12）。HdN 与 HdC 之间的其他显著差异（图 2D 和图 S13）也体现在氨酰-tRNA生物合成、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢、泛酸和辅酶A生物合成、β-丙氨酸代谢、氨基酸生物合成、ABC转运蛋白、氰基氨基酸代谢，以及氨基糖和核苷酸糖代谢通路中。尽管超过三分之二的差异代谢物上调（如苯类化合物和有机含氧化合物），但差异代谢通路涉及的大多数代谢物下调，例如天冬酰胺、缬氨酸、组氨酸和泛酸。

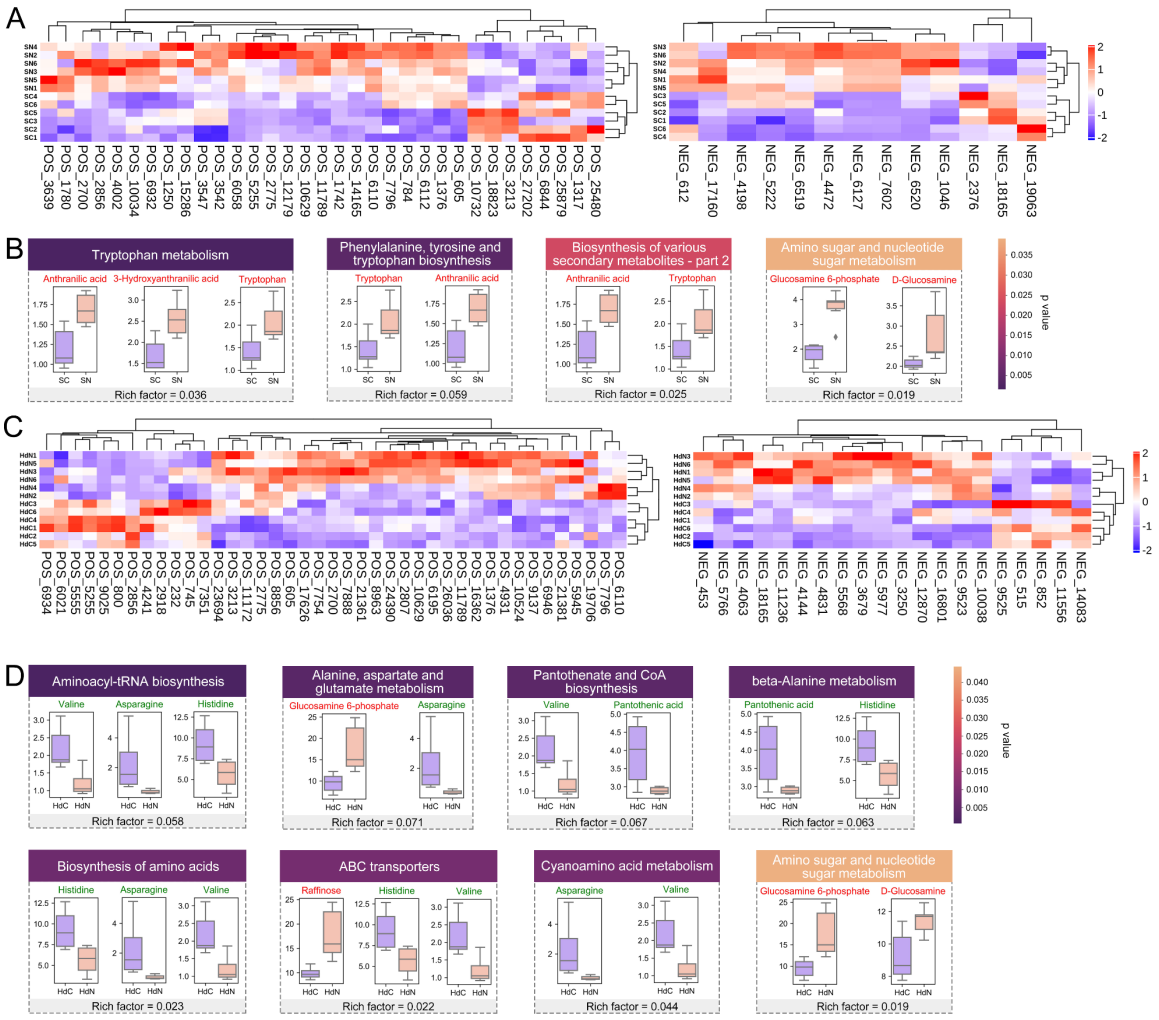


图 2. 种子经氧化锌纳米颗粒（30 nm，200 毫克/升）纳米引发后，环境胁迫下玉米叶片的代谢组学分析。A，盐胁迫下玉米叶片代谢物的聚类热图。B，盐胁迫下玉米叶片中变化的代谢物和代谢通路。C，复合热旱胁迫下玉米叶片代谢物的聚类热图。D，复合热旱胁迫下玉米叶片中变化的代谢物和代谢通路。

3.3 解读流程、模型建立与特征重要性

为了更好地理解种子纳米引发的作用机制，我们基于机器学习的模型解释建立了 ISAR。选择根干重进行分类，因为它是改善幅度最大的生物学终点，并且在……中发挥了重要作用

对水分和养分的吸收。模型解释的流程如下（图 3A）：首先进行事后解释，其次进行基于模型的解释，最后再进行事后解释（PMP）。首先建立 LightGBM 模型作为复杂模型。随后对 LightGBM 模型进行事后解释，以识别重要特征并展示它们如何影响模型输出，例如置换重要性、部分依赖图、个体条件期望和 SHAP。然后，根据事后解释提取的信息简化问题，并建立自解释模型（决策树和 RuleFit）。如前所述，基于模型的解释可能因叶节点或决策规则过多而不够直观。因此，随后进行了事后解释，以便更直观地进行解释。

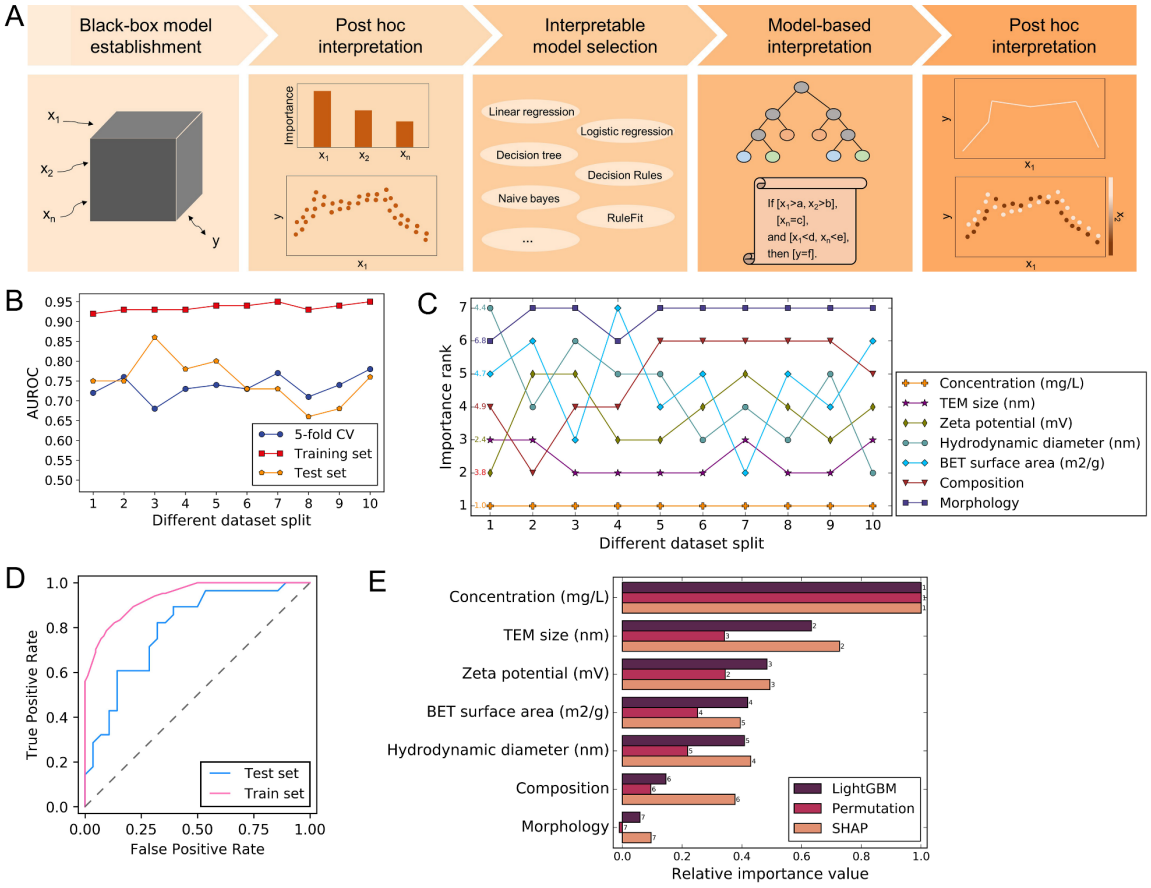


图3. 模型建立、特征重要性和解释工作流程。A，PMP解释工作流程（图示仅用于说明，并非基于数据）。B，所建立模型在十个数据集划分上的AUROC。C，三种方法的平均特征重要性排名

（LightGBM、置换法和 SHAP）在十个数据集划分上的结果。第一个点左侧的数字表示平均特征重要性排名。D，基于第五个数据集划分训练的已建立模型的 ROC 曲线。E，基于第五个数据集划分训练的已建立模型中三种方法的相对特征重要性（除以重要性的最大值），绝对值见图 S14。柱形右侧的数字表示某一特征在各方法中的重要性顺序。

十种不同数据集划分的测试集平均 AUROC、准确率和 F1 分数分别为 0.75、0.72 和 0.73（图 3B 和图 S15 ）。在所有数据集划分中，浓度均被确定为最重要的特征（图 3C ）。尺寸（ TEM 测量）和表面电荷（根据ζ电位测定）始终位列前五，也被确定为重要特征。由于第五种数据集划分训练得到的模型，其特征重要性排名与平均排名相似且性能良好，因此被用于进一步的模型解释（图 3D、E）。

3.4 LightGBM模型的事后解释

PDP、ICE 和 SHAP 的特征效应大致呈现相同趋势（图 4A–F，图 S16 和 S17）。浓度为 50 毫克/升和 200 毫克/升时，根干重较高。尺寸越大，根干重越高；但当 TEM尺寸超过 ~20nm 时，根干重趋于饱和。ζ电位的影响总体呈下降趋势。二维部分依赖图展示了两个特征的综合效应（图 4G–I），其与各特征的单独效应相似，因为主效应起主要作用；这些结果可为自定义分类树提供线索。SHAP 交互值用于衡量交互强度（图 4J）。浓度与其他特征的交互值最高，这或许可以解释 ICE 曲线为何不一致（图 4A ）。浓度与 ζ 电位的交互最强，并存在垂直离散（图 4K ）。当浓度为 100 毫克/升时，浓度与ζ电位之间的相互作用会增加根干重；而当浓度为 50 毫克/升时，则会降低根干重。此外，在浓度为 100 毫克/升和 50 毫克/升的样本中，TEM尺寸与浓度之间的相互作用会降低根干重（图 4L）。SRI 最高的氧化锌纳米引发处理的局部解释见

图 4M。七个特征中有六个发挥了正向作用。例如，浓度为 200 毫克/升时，预测值大幅高于基准值。

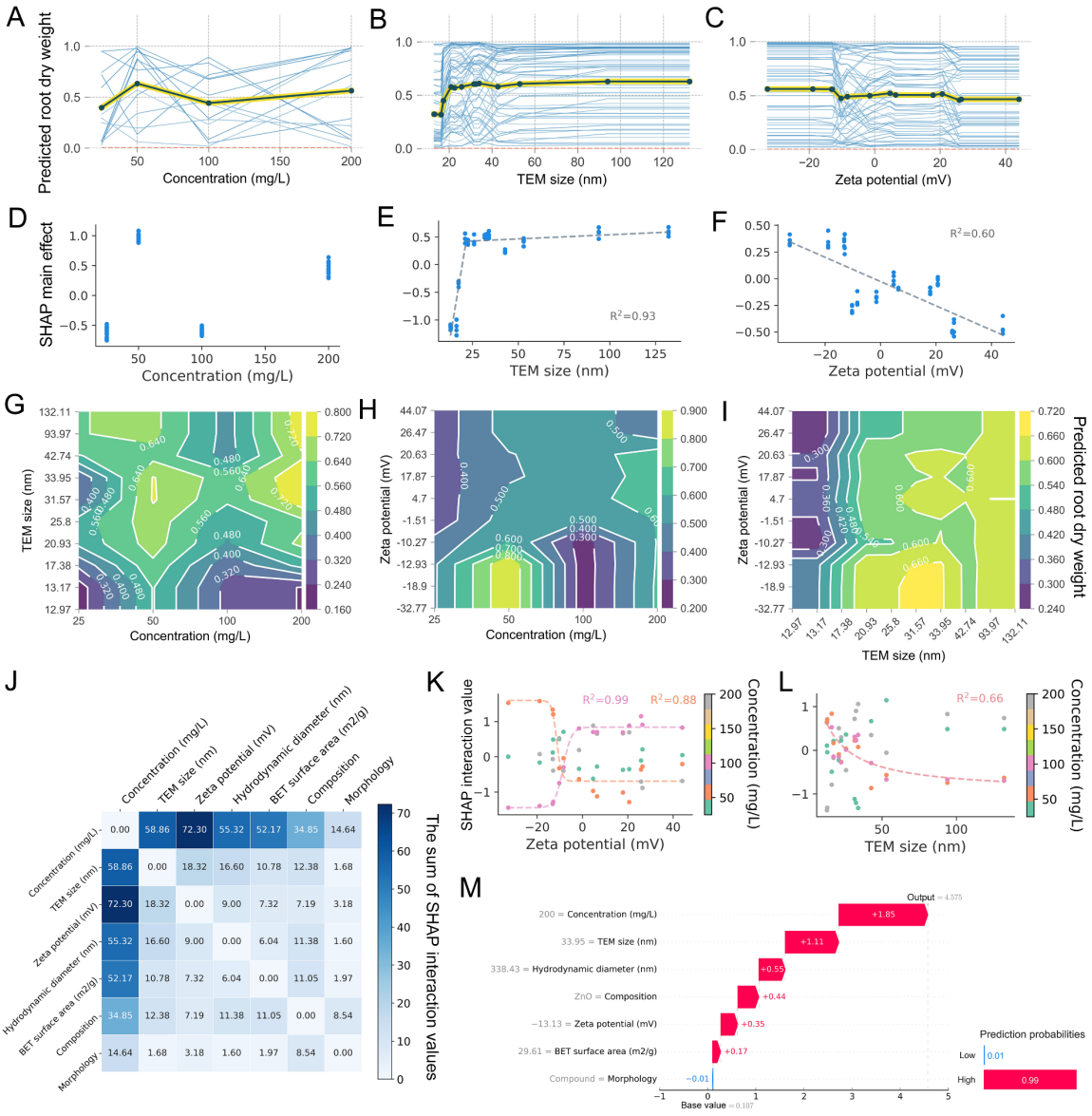


图 4。事后解 释 LightGBM模型。A-C，三个重要特征的部分依赖图和个体条件期望图。

特征。D-F，三个重要特征的 SHAP主效应。虚线表示分段线性拟合（E）和线性拟合（F）的结果。G-I，三个重要特征中两两之间的二维部分依赖图。J，所有特征的 SHAP 交互值。K、L，两个重要特征之间最明显的 SHAP 交互效应图。虚线表示……的结果

浓度为 50 毫克/升和 200 毫克/升的数据点分别进行逻辑拟合（K）和平台拟合（L）（K），以及合并拟合（L）。m，通过为每个输入特征分配数值化贡献度来进行局部解释。拟合方程见补充方法 S4。

3.5 自解释模型的基于模型的解释与事后解释

通过对 LightGBM模型进行事后解释所识别出的重要特征，被用于决策树和 RuleFit 建模，以简化问题。基于第五次数据集划分，决策树和 RuleFit 模型在测试集上的 AUROC 分数分别为 0.82 和 0.81（图 S18），不低于 LightGBM模型的得分（0.80）。决策树是最简单且最常用的分类算法之一，通过将某个实例与决策节点进行比较，提供对比式且易于理解的解释。第一个叶节点源自第一个决策节点：如果 ζ电位低于 -25.835 mV，则 13 个实例中有 11 个被分类为根干重高水平（图 S19），这与图 4C、F 一致。此外，第二个叶节点是 TEM尺寸和 ζ电位的联合条件：如果 ζ电位低于 -25.835 mV 且 TEM尺寸超过 113.04 nm，则 10 个实例中有 8 个被分类为根干重高水平，这与图 4I 一致。RuleFit 算法是树集成模型与稀疏线性模型的结合。因此，它具有较强的可解释性，通常在复杂问题上表现良好。最重要的规则是浓度和 ζ电位的联合条件（表 S6）：如果浓度大于 37.5 mg/L 且小于 75 mg/L，并且 ζ电位低于 5.565 mV，则根干重阶跃增加 2.2548，这与二者的部分依赖图（PDP）联合效应一致（图 4H）。此外，第二重要规则与浓度和 TEM尺寸之间的部分依赖图（PDP）联合效应一致（图 4G）。然而，在决策树和 RuleFit 模型中，很难解释单个特征的总体效应，因为大多数叶节点都经过了多个决策节点，而且在 RuleFit 模型中，浓度的效应分布于 38 条规则中的 29 条规则之中。

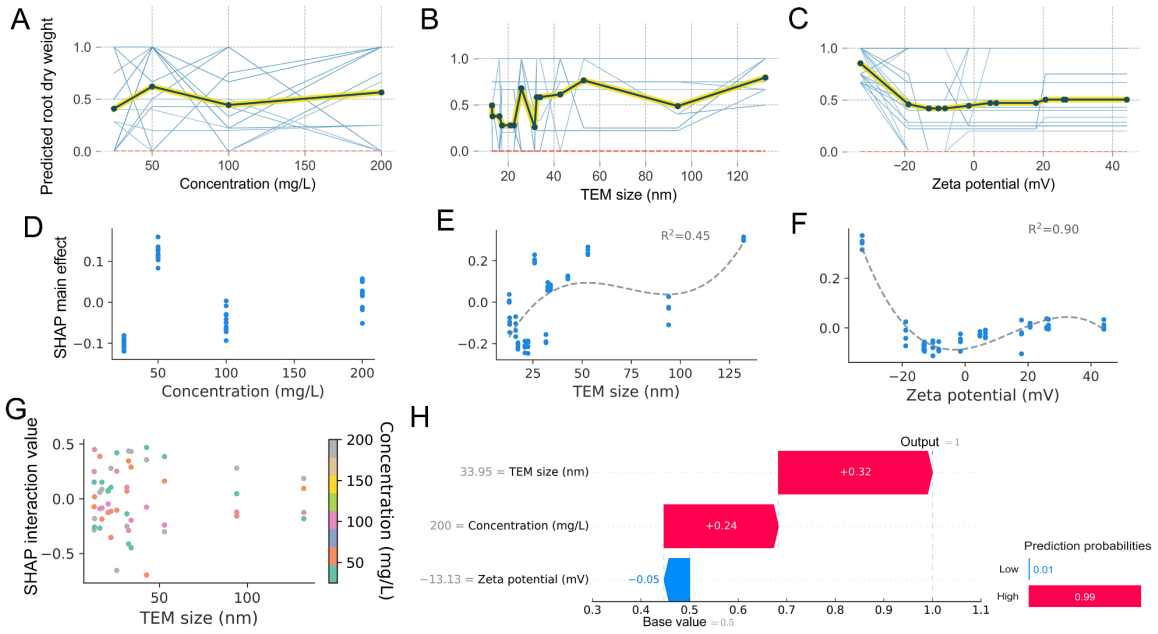


图 5. 已建立决策树模型的事后解释。A–C，决策树模型中三个重要特征的部分依赖图和个体条件期望图。D–F，决策树模型中三个重要特征的 SHAP主效应。虚线表示多项式拟合的结果。G，决策树模型中浓度与 TEM尺寸之间最明显的 SHAP 交互效应图。H，通过为决策树模型中的每个输入特征赋予数值化贡献度进行局部解释。

因此，采用事后解释对决策树模型进行直观解释（图 5）。浓度的效应与 LightGBM模型中的效应一致，但 TEM尺寸和 ζ电位的效应发生了一些变化。这可能是由于以下原因：（i）决策树算法缺乏平滑性；（ii）用于建模的特征组合有限。更具体地说，由于决策节点的存在，输入特征的微小变化可能会对预测结果产生较大影响；尽管在建模前已剔除高度相关的特征，但每两个特征之间的特定数值可能会成对出现。因此，决策树模型中的特征效应可能是 LightGBM模型中特征效应的组合，因为决策树模型中仅使用了三个特征。尽管如此，TEM尺寸和 ζ电位的总体特征效应（图 5E、F）与 LightGBM模型中的效应（图 4E、F）相似：更大的 TEM尺寸和更低的 ζ电位具有更高的根

干重。浓度和尺寸之间的相互作用最强，但离散度并不明显（图 S20 和图 5G）。SRI 最高的氧化锌纳米引发处理的局部解释见图 5H。

3.6. 用于预测层面解释的在线交互式网站

预测层面解释能够深入揭示单个预测结果，这对专注于特定纳米材料的研究人员可能颇具吸引力且实用。交互式网站是为所用数据集中的所有实例（包括自定义实例）实现预测层面解释的有效方式。我们将已建立的模型和局部解释部署在网站上（https://seed-nanopriming-isar.streamlit.app/），可实时进行模型预测和预测层面解释（图6和图S21）。值得注意的是，自定义实例可能无效，因为它们忽略了特征分布和特征相关性。此外，我们在该网站上采用局部可解释模型无关解释（LIME），并将其与SHAP局部解释方法进行比较(Ribeiro等人，2016年)。

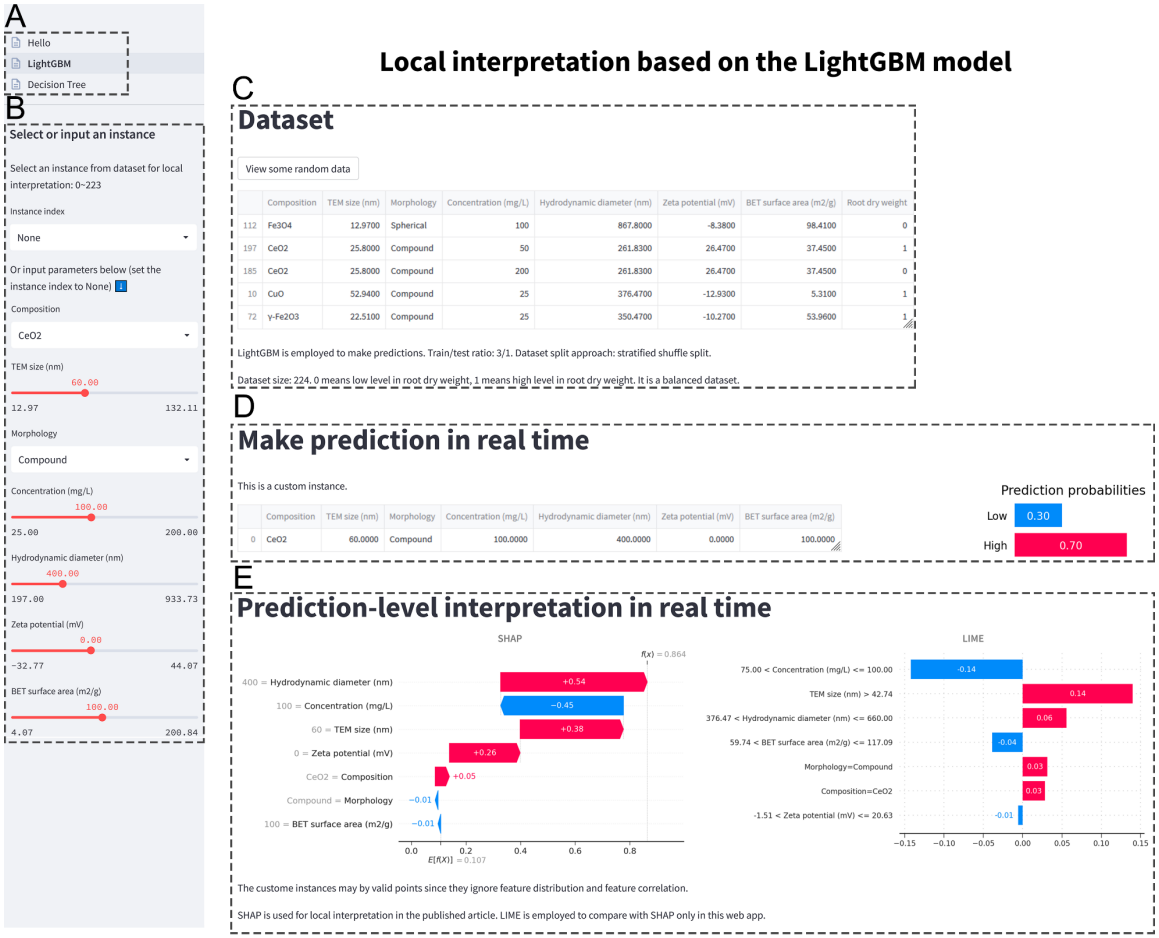


图 6. 在线　　交互式网站，用于预测层面解释（https://seed-nanopriming-isar.streamlit.app/）。A，该网站不同页面的导航。Hello：欢迎页面。LightGBM：LightGBM模型的局部解释。决策树：决策树模型的局部解释。B，从所用数据集中选择一个实例或自定义样本。C，数据集介绍及一些随机实例。D，显示所选/自定义实例并进行预测。E，对该预测进行预测层面解释。

4. 讨论

作物在不同生长阶段会受到各种环境胁迫。能够增强作物对不同环境胁迫的抗逆性策略，未来可能带来多重益处。在盐分和复合热旱胁迫下，七种选定的纳米引发处理使SRI平均分别显著提高了13.9%和12.6%。The

采用氧化锌（30 纳米，200 毫克/升）处理，在盐分胁迫和复合热旱胁迫下均获得了最高的 SRI，且纳米颗粒成本较低，仅为 ~¥ 13.55/公顷（约 $ 2/公顷，补充方法 S5）。这可能有以下原因：锌是六类酶中唯一都包含的金属，也是植物必需酶和多种转录因子的重要组成成分 (Auld, 2001; Prasad et al., 2012)；全球一半的谷物种植土壤存在缺锌问题 (Liu et al., 2020)，而玉米被认为对缺锌高度敏感 (Noulas et al., 2018)；此外，研究表明，氧化锌纳米颗粒可经生物转化成为植物可利用的形态 (Da Cruz et al., 2017)。此外，在所有生物学终点指标中，根干重的改善最为显著，这表明种子纳米引发可能通过促进根系吸收水分和养分来提高玉米的胁迫耐受性，先前的文献报道也指出了这一点 (El-Badri et al., 2021; Mahakham et al.,2017)。荟萃分析表明，与其他含金属纳米颗粒相比，含锌纳米颗粒能更显著地增加根长 (Guo et al., 2022)。尽管本研究仅考察了幼苗期，但在所有生长阶段，深扎且发育良好的根系可能对植物在环境胁迫下的适应和生产力至关重要 (Giordano et al.,2021; Varshney et al., 2021)。此外，纳米颗粒绿色合成技术的进步将提升其生物相容性，使其适用于生物技术应用 (Shafey, 2020; Sharma et al., 2021)。

代谢组学表明，种子纳米引发后的玉米叶片在盐胁迫和复合热旱胁迫下均发生了许多代谢重编程。色氨酸是褪黑素的生物合成前体；褪黑素可通过直接清除活性氧，间接增强抗氧化酶活性，从而提高植物对盐胁迫的抗性 (Liet al., 2019)。次生代谢物被认为是天然工具，可通过调节参与胁迫耐受性的基因转录，帮助植物耐受环境胁迫 (Jan etal., 2021)。SN处理下观察到苯类化合物、碳水化合物及其缀合物大量积累。据报道，苯类化合物可作为化学信号和天然产物的前体，与植物胁迫适应能力有关 (Tinte et al., 2022)。碳水化合物是植物代谢过程中重要的碳源和能量来源，其稳态

对植物环境胁迫耐受性至关重要。在盐胁迫和复合热旱胁迫下，氨基糖和核苷酸糖代谢均显著富集，这是由于氨基葡萄糖-6-磷酸和D-氨基葡萄糖上调所致。天冬酰胺在植物氮的储存与运输中发挥重要作用，并在胁迫条件下积累，以维持渗透压 (Lea et al., 2007)。然而，HdN处理下天冬酰胺下调，这可能是因为HdN上调了其他代谢物（如脂肪酸及其缀合物），以平衡渗透压并帮助植物抵御脱水 (Gu et al., 2020)。氨酰-tRNA生物合成受到影响，这可能表明HdN可通过调节翻译过程缓解复合热旱胁迫 (Wang et al., 2021)。

通过实验收集数据既耗费资源又耗时，这凸显了充分利用现有数据的重要性。本研究采用了更严格的性能评估方法，将数据集随机划分十次（随机种子从 1 到 10），并构建十个模型，以确定平均模型性能。这种严格的方法可能会导致模型性能降低，但性能评估是无偏的。由于在特定训练集上训练的模型可能导致性能估计存在偏差，尤其是在小型数据集中 (Vabalas 等，2019年)。

提出了 PMP 解释工作流程，以彰显不同解释方法的优势并弥补其不足。研究提出了三种类型的 ISAR，包括对 LightGBM模型进行事后解释、对自解释模型进行基于模型的解释，以及结合对决策树模型进行基于模型的解释和事后解释。研究人员和政策制定者可以选择自己倾向于采用的解释类型。例如，对自解释模型进行基于模型的解释可用于高风险决策 (Rudin, 2019年)。然而，对于性能良好的复杂模型，事后解释或许有助于研究人员从高维空间中提取假设。例如，纳米颗粒尺寸和ζ电位的影响及其相互作用值得更多关注，因为大多数研究都聚焦于浓度。

借助可解释工具开展数据驱动研究，有望加快纳米材料的发现与评估，但数据缺口始终是一项挑战。尽管过去十年间数据共享实践受到了关注 (Yu 等人, 2021年)，但由于数据收集成本高昂、特征空间庞大，以及数据整理和质量评估过程复杂，农业领域的可用数据仍然不足。对纳米材料、种子/植物、环境和实验方案进行全面表征，将提高实验数据的可重复利用性。

5. 结论

本研究提出了一个系统框架，用于探究采用低成本纳米颗粒进行种子引发的生物效应及其潜在机制。七种选定的纳米引发处理显著提高了植物在盐分和复合热旱胁迫下的耐受性。代谢组学 分析表明，SRI 值最高的氧化锌纳米引发处理通过多种代谢重编程，促进了植物在不同非生物胁迫下的幼苗生长。此外，我们提出了一种前景广阔的 ISAR 方法，该方法整合多种机器学习解释方法，以深入了解种子纳米引发的作用机制。纳米颗粒的浓度、尺寸和 ζ电位被确定为主要因素，并对其效应及相互作用进行了描述。为帮助感兴趣的读者进一步了解具体的纳米引发处理，我们在交互式网站上提供了 ISAR 模型及其预测层面解释。此外，本文提出的 ISAR 是一种通用且易于使用的技术，可应用于农业和环境应用等广泛领域。

致谢

本研究得到中国浙江省自然科学基金（项目编号：LZ23C200005）、国家自然科学基金（项目编号：61873231）和中国国家留学基金管理委员会（项目编号：202206320340）的资助。

参考文献

Abdel Latef, A.A.H.、Abu Alhmad、M.F.、Abdelfattah、K.E.，2017年。使用氧化锌

纳米颗粒进行引发处理在缓解羽扇豆（lupinus termis）植物盐胁迫中的可能作用。《植物生长调节》36，60-70。

Abdel Latef, A.A.H., Srivastava, A.K., El-Sadek, M.S.A., Kordrostami, M., Tran, L.P., 2018年. 二氧化钛纳米颗粒改善了蚕豆在盐渍土条件下的生长并增强了其耐受性。《土地退化与发展》29, 1065-1073。

Ahuja, I., de Vos, R.C.H., Bones, A.M., Hall, R.D., 2010年. 植物分子胁迫响应面临气候变化。《植物科学趋势》15, 664-674。Auld, D.S., 2001年. 生化锌位点中的锌配位球。《生物金属》14, 271-313。Chavali, M.S., Nikolova, M.P., 2019年. 金属氧化物纳米颗粒及其在纳米技术中的应用。《应用科学》1, 607。

Da Cruz, T.N.M., Savassa, S.M., Gomes, M.H.F., Rodrigues, E.S., Duran, N.M., de Almeida, E., Martinelli, A.P., de Carvalho, H.W.P., 2017年. 揭示植物通过体内X射线光谱学吸收和运输氧化锌纳米颗粒的机制。《环境科学：纳米》4, 2367-2376。

De La Torre-Roche, R., Cantu, J., Tamez, C., Zuverza-Mena, N., Hamdi, H., Adisa, I.O., Elmer, W., Gardea- Torresdey, J., White, J.C., 2020年. 工程化纳米材料进行种子生物强化：缓解营养不良的一条途径？J. Agric. Food Chem. 68, 12189-12202.

Djanaguiraman, M., Belliraj, N., Bossmann, S.H., Prasad, P.V.V., 2018年. 通过硒纳米颗粒处理缓解粒用高粱的高温胁迫。《ACS欧米伽》3, 2479-2491.

El-Badri, A.M.A., Batool, M., Mohamed, I.A.A., Khatab, A., Sherif, A., Wang, Z., Salah, A., Nishawy, E., Ayaad, M., Kuai, J., Wang, B., Zhou, G., 2021年. 通过对油菜（brassica napus l.）施用氧化锌纳米引发调节盐分对幼苗早期的影响。Plant Physiol. Biochem. 166, 376-392.

Fiehn, O., 2002年. 代谢组学——连接基因型与表型的纽带。《植物分子生物学》48, 155–171. Giordano, M., Petropoulos, S.A., Rouphael, Y., 2021年. 蔬菜作物应对干旱、高温和盐胁迫的响应与防御机制. Agriculture 11, 463.

Gu, H., Wang, Y., Xie, H., Qiu, C., Zhang, S., Xiao, J., Li, H., Chen, L., Li, X., Ding, Z., 2020年。干旱胁迫会引发茶树中涉及木质素、黄酮类化合物和脂肪酸的蛋白质组变化。Scientific Reports 10,

15504。

Guo, H., Liu, Y., Chen, J., Zhu, Y., Zhang, Z., 2022年。几种金属纳米颗粒对种子萌发和幼苗生长的影响：荟萃分析。Coatings 12, 183。Hoagland, D.R., Arnon, D.I., Others, 1950年。无土栽培植物的水培法。Calif. Agric. Exp. Stat. Circ. 347, 1-32。Hofmann, T., Lowry, G.V., Ghoshal, S., Tufenkji, N., Brambilla, D., Dutcher, J.R., Gilbertson, L.M., Giraldo, J.P., Kinsella, J.M., Landry, M.P., Lovell, W., Naccache, R., Paret, M., Pedersen, J.A., Unrine, J.M., White, J.C., Wilkinson, K.J., 2020年。技术成熟度及克服可持续实施纳米技术赋能的植物农业的障碍。Nat. Food 1, 416-425。

Hussain, A., Rizwan, M., Ali, Q., Ali, S., 2019年。通过硅纳米颗粒进行种子引发，提高了小麦的生物量和产量，同时降低了氧化胁迫和小麦籽粒中的镉浓度。Environ. Sci. Pollut. Res. 26, 7579-7588。

Ioannou, A., Gohari, G., Papaphilippou, P., Panahirad, S., Akbari, A., Dadpour, M.R., Krasia-Christoforou, T., Fotopoulos, V., 2020年。气候变化背景下农业中的先进纳米材料：通往未来之路？Environ. Exp. Bot. 176, 104048。

Jan, R., Asaf, S., Numan, M., Lubna, Kim, K., 2021年。植物次生代谢产物生物合成及其在生物胁迫和非生物胁迫条件下的转录调控。Agronomy 11, 968。

Kah, M., Kookana, R.S., Gogos, A., Bucheli, T.D., 2018年。纳米农药和纳米肥料与传统对应产品的批判性评估。Nat. Nanotechnol. 13, 677-684。

Kah, M., Tufenkji, N., White, J.C., 2019年。提升作物营养与保护的纳米技术策略。Nat. Nanotechnol. 14, 532-540。

Khan, I., Raza, M.A., Awan, S.A., Shah, G.A., Rizwan, M., Ali, B., Tariq, R., Hassan, M.J., Alyemeni, M.N., Brestic, M., Zhang, X., Ali, S., Huang, L., 2020年。通过银纳米颗粒（agnps）种子引发改善珍珠粟的盐诱导毒害：氧化损伤、抗氧化酶和离子吸收是决定耐盐能力的主要因素。Plant Physiol. Biochem. 156, 221-232。

Lea, P.J., Sodek, L., Parry, M.A.J., Shewry, P.R., Halford, N.G., 2007年。植物中的天冬酰胺。Ann. Appl. Biol. 150, 1-26。

Li, J., Liu, J., Zhu, T., Zhao, C., Li, L., Chen, M., 2019年。褪黑素在盐胁迫响应中的作用。International Journal of Molecular Sciences 20, 1735。Liu, D., Zhang, W., Liu, Y., Chen, X., Zou, C., 2020年。施用锌肥通过提高劣质籽粒的籽粒数和籽粒重量来增加玉米产量。Frontiers in Plant Science 11, 188。Mahakham, W., Sarmah, A.K., Maensiri, S., Theerakulpisut, P., 2017年。利用植物合成银纳米颗粒的纳米引发技术促进老化水稻种子的萌发和淀粉代谢。Scientific Reports 7, 8263。Muratov, E.N., Bajorath, J., Sheridan, R.P., Tetko, I.V., Filimonov, D., Poroikov, V., Oprea, T.I., Baskin, I.I., Varnek, A., Roitberg, A., Isayev, O., Curtalolo, S., Fourches, D., Cohen, Y., Aspuru-Guzik, A., Winkler, D.A., Agrafiotis, D., Cherkasov, A., Tropsha, A., 2020年。无边界的定量构效关系。Chemical Society Reviews 49, 3525-3564。Murdoch, W.J., Singh, C., Kumbier, K., Abbasi-Asl, R., Yu, B., 2019年。可解释机器学习的定义、方法与应用。美国国家科学院院刊 116, 22071-22080。

Nongonierma, A.B., Paolella, S., Mudgil, P., Maqsood, S., Fitzgerald, R.J., 2018年。骆驼乳蛋白水解物中新型二肽基肽酶IV（dpp-iv）抑制肽的鉴定。Food Chemistry 244, 340-348。

Noulas, C., Tziouvalekas, M., Karyotis, T., 2018年。土壤、水和粮食作物中的锌。J. Trace Elem. Med. Biol. 49, 252-260. Prasad, T.N.V.K., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Reddy, K.R., Sreeprasad, T.S., Sajanlal, P.R., Pradeep, T., 2012年。纳米氧化锌颗粒对花生萌发、生长和产量的影响。J. Plant Nutr. 35, 905-927. Rai-Kalal, P., Tomar, R.S., Jajoo, A., 2021年。氧化硅种子纳米引发可提高小麦植株缓解干旱胁迫的潜力。Functional Plant Biology 48, 905-915. Rai-Kalal, P., Tomar, R.S., Jajoo, A., 2021年。过氧化氢信号传导调控氧化锌纳米引发小麦（普通小麦）种子的萌发，从而改善干旱胁迫下的植物生长表现。Environ. Exp. Bot. 189, 104561. Ribeiro, M.T., Singh, S., Guestrin, C., 2016年。“我为什么应该相信你？”：解释任何

分类器。 载于：第22届ACM SIGKDD国际知识发现与数据挖掘会议论文集，1135-1144。

Rizwan, M., Ali, S., Ali, B., Adrees, M., Arshad, M., Hussain, A., Zia Ur Rehman, M., Waris, A.A., 2019年。锌和氧化铁纳米颗粒促进了植物生长，并降低了小麦的氧化胁迫和镉浓度。Chemosphere 214, 269-277。

Rudin, C., 2019年。对于高风险决策，应停止解释黑箱机器学习模型，转而使用可解释模型。Nat. Mach. Intell. 1, 206-215。

Shafey, A.M.E., 2020年。利用植物叶提取物绿色合成金属和金属氧化物纳米颗粒及其应用：综述。Green Process. Synth. 9, 304-339。

Shah, T., Latif, S., Saeed, F., Ali, I., Ullah, S., Abdullah Alsahli, A., Jan, S., Ahmad, P., 2021年。用二氧化钛纳米颗粒进行种子引发可增强玉米（zea mays l.）的种子活力、叶片水分状况和抗氧化酶活性，从而提高其耐盐胁迫能力。J. King Saud Univ., Sci. 33, 101207。

Sharma, P., Kherb, J., Prakash, J., Kaushal, R., 2021年。一种新颖且简便的二氧化硅纳米颗粒绿色合成方法，用于去除有毒水污染物。Appl. Nanosci. 13, 735-747.

Shulaev, V., 2006年。代谢组学技术与生物信息学。Brief. Bioinform. 7, 128-139.

Tinte, M.M., Masike, K., Steenkamp, P.A., Huyser, J., van der Hooft, J.J.J., Tugizimana, F., 2022年。计算代谢组学工具揭示了生物刺激剂海藻提取物在干旱胁迫条件下对玉米植物的影响所引发的代谢重构。Metabolites 12, 487.

Tsugita, M., Morimoto, N., Nakayama, M., 2017年。二氧化硅和二氧化钛纳米颗粒协同触发巨噬细胞炎症反应。Part. Fibre Toxicol. 14, 11.

Vabalas, A., Gowen, E., Poliakoff, E., Casson, A.J., 2019年。有限样本量下的机器学习算法验证。《PLOS ONE》14, e224365。

Van Nguyen, D., Nguyen, H.M., Le, N.T., Nguyen, K.H., Nguyen, H.T., Le, H.M., Nguyen, A.T., Dinh, N.T.T., Hoang, S.A., Van Ha, C., 2022年。铜纳米颗粒应用增强了干旱胁迫条件下玉米的植物生长和籽粒产量。《植物生长调节》41, 364-375。

Varshney, R.K., Barmukh, R., Roorkiwal, M., Qi, Y., Kholova, J., Tuberosa, R., Reynolds, M.P., Tardieu, F., Siddique, K.H.M., 2021年。面向更强干旱适应能力的定制化作物育种。Adv.

遗传学 2, e202100017。

Wang, Q., Wen, J., Zheng, J., Zhao, J., Qiu, C., Xiao, D., Mu, L., Liu, X., 2021年。腐殖酸对砷酸盐植物毒性的调控及相关代谢机制。《生态毒理学与环境安全》207, 111379。

Yu, C., Zeng, H., Wang, Q., Chen, W., Chen, W., Yu, W., Lou, H., Wu, J., 2022年。多组学分析揭示了榧树嫩枝对纳米塑料污染物的分子响应。《危险材料杂志》436, 129181。

Yu, H., Luo, D., Dai, L., Cheng, F., 2021年。计算机模拟纳米安全评估工具及其在生态系统层面整合的前景。《纳米尺度》13, 8722-8739。

Yu, H., Zhao, Z., Cheng, F., 2021年。利用透明机器学习预测并研究纳米颗粒的细胞毒性。Chemosphere 276, 130164。

Yu, H., Zhao, Z., Liu, D., Cheng, F., 2022年。整合机器学习解释方法，研究种子引发过程中纳米颗粒的吸收及其生物效应。《纳米尺度》14, 15305- 15315。

Yu, H., Zhao, Z., Luo, D., Cheng, F., 2022年。利用可解释机器学习研究复杂的纳米材料—植物—土壤相互作用。《环境科学：纳米》9, 4305-4316。

Yuan, Y., Cairns, J.E., Babu, R., Gowda, M., Makumbi, D., Magorokosho, C., Zhang, A., Liu, Y., Wang, N., Hao, Z., San Vicente, F., Olsen, M.S., Prasanna, B.M., Lu, Y., Zhang, X., 2019年。全基因组关联定位和基因组预测分析揭示了玉米在干旱和热胁迫条件下籽粒产量与开花时间的遗传结构。Frontiers in Plant Science 9, 1919。

Zhao, C., Liu, B., Piao, S., Wang, X., Lobell, D.B., Huang, Y., Huang, M., Yao, Y., Bassu, S., Ciais, P., Durand, J., Elliott, J., Ewert, F., Janssens, I.A., Li, T., Lin, E., Liu, Q., Martre, P., Müller, C., Peng, S., Peñuelas, J., Ruane, A.C., Wallach, D., Wang, T., Wu, D., Liu, Z., Zhu, Y., Zhu, Z., Asseng, S., 2017年。气温升高会降低全球产量：四项独立估算对主要作物的研究结果。《美国国家科学院院刊》114，9326-9331。

Zhao, L., Lu, L., Wang, A., Zhang, H., Huang, M., Wu, H., Xing, B., Wang, Z., Ji, R., 2020年。农业纳米生物技术：利用纳米材料促进植物生长并提高胁迫耐受性。J. Agric. Food Chem. 68, 1935-1947。