

离子液体 1-己基-3-甲基咪唑溴化盐对 番茄种子萌发及幼苗生长的影响

刘 萍,王雪瑞,丁义峰,王添乐,张 妍,卢 芳,吕保鹤,范琪琪

(河南师范大学 生命科学学院,河南 新乡 453007)

摘 要:用不同质量浓度(0、3、6、9、12、15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的离子液体 1-己基-3-甲基咪唑溴化盐($[\text{C}_6\text{mim}]\text{Br}$)水溶液对番茄金顶一号品种进行浸种和苗期水培,研究了种子萌发、幼苗形态以及幼苗叶片生理生化变化。结果表明,当离子液体质量浓度 $\geq 9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,种子发芽率比对照降低差异显著;当离子液体质量浓度 $\geq 6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,根长和苗长比对照降低差异极显著。本研究所设的所有离子液体质量浓度均使番茄幼苗叶片中叶绿素含量比对照降低差异显著,尤其是当 $\geq 9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时则差异极显著。幼苗叶片超氧化物歧化酶(SOD)在离子液体质量浓度为 6~12 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时分别比对照降低达显著与极显著水平,当离子液体质量浓度 $\geq 12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,POD 活力比对照降低差异极显著。处理组幼苗叶片中超氧阴离子($\text{O}_2 \cdot^-$)产生速率和丙二醛(MDA)含量分别在离子液体质量浓度 $\geq 6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $\geq 9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时比对照增加,达极显著差异水平。在本试验条件下,离子液体 1-己基-3-甲基咪唑溴化盐对番茄种子萌发和幼苗生长均具有明显的抑制效应。

关键词:离子液体;番茄;种子萌发;幼苗生长;抑制效应

中图分类号:Q45.3;S641.2

文献标志码:A

离子液体(Ionic liquids),又称室温离子液体(Room temperature ionic liquids, RTIL),是指在室温及相邻温度下完全由离子组成的有机液体状态的物质。离子液体具有化学性质稳定、无色无味、溶解无机及有机物能力强、蒸汽压低不挥发、良好的导电性和较宽的电化学窗口、较好的热稳定性、灵活的可设计性等许多优点^[1]。离子液体的合成及利用是近年来化学研究的热点之一,其正以“绿色溶剂”代替传统溶剂在许多化学和生物反应中广泛使用,并有着良好的应用前景^[2]。

当前离子液体的应用领域还在不断扩展,其也不可避免的要流失到环境中。随着研究的不断深入和应用的不断推广,近几年来人们逐渐认识到离子液体自身的绿色性问题,其环境行为及生态毒性已引起了研究者的关注^[4]。已有研究表明,离子液体并非真正意义上的绿色产品,而是存在潜在的危害^[3]。离子液体对藻类、微生物、动物均有不同程度的毒性^[5-8]。有些离子液体对农作物生长发育也有不同程度的负面影响^[9-11]。

本文研究了离子液体 $[\text{C}_6\text{mim}]\text{Br}$ 对主要蔬菜作物番茄种子萌发和幼苗生长的影响,以期对离子液体的环境安全评价提供理论依据和参考。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

离子液体($[\text{C}_6\text{mim}]\text{Br}$)由河南师范大学化学化工学院合成,所有其它试剂均为分析纯,番茄品种为金顶一号,由陕西阳光种业有限公司生产。

1.2 材料处理

取粒大饱满、外形均匀的番茄种子,用蒸馏水洗净后在 55 $^{\circ}\text{C}$ 温水中恒温水浴条件下消毒 30 min,去离

收稿日期:2014-10-07

基金项目:河南省重点科技攻关计划项目(122102310356;142102110143)

作者简介(通信作者):刘 萍(1958-),女,河南潢川人,河南师范大学教授,从事植物生理学研究,E-mail:Liuping5812@sina.com.

子水反复冲洗后分别摆放在装有5种质量浓度(3、6、9、12、15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) $[\text{C}_6\text{mim}]\text{Br}$ 的培养皿中,在28℃的恒温箱中催芽.挑出萌发一致的种子,在装有5种不同质量浓度 $[\text{C}_6\text{mim}]\text{Br}$ 液体培养罐的尼龙网上分别均匀放置100粒,每个质量浓度重复3次,以去离子水培养作为对照.培养箱为28℃16h光/24℃8h暗,相对湿度90%,每天定时更换培养罐中各种质量浓度的离子液体.

1.3 指标测试

种子指标的测定按国家种子质量检测标准进行,发芽率是指在处理7d时正常发芽种子数占供试种子数的百分比;根长、苗长的测量是从每个培养罐中随机选取10株幼苗,用直尺测量每株的高度和根长,求其平均值.

当番茄幼苗长到4片真叶时,取其叶片,以去离子水反复冲洗,用干净纱布擦干后立即测定各种生理指标.叶绿素含量的测定采用浸提法^[12], $\text{O}_2 \cdot^-$ 产生速率的测定按王爱国等的方法^[13],MDA含量的测定采用硫代巴比妥酸法^[14],POD活力的测定采用愈创木酚比色法^[15],SOD活力测定采用氮蓝四唑法^[16].以上数据均采用3次重复的平均值.

1.4 数据分析

试验结果用Excel和SPSS 13.0软件进行作图和统计分析. **代表 $[\text{C}_6\text{mim}]\text{Br}$ 处理与对照相比具极显著性差异($P \leq 0.01$), *代表 $[\text{C}_6\text{mim}]\text{Br}$ 处理与对照相比有显著性差异($P \leq 0.05$).

2 结果与分析

2.1 $[\text{C}_6\text{mim}]\text{Br}$ 对番茄种子发芽及幼苗生长的影响

图1显示,随着 $[\text{C}_6\text{mim}]\text{Br}$ 处理质量浓度的增大,番茄种子的发芽率呈逐渐降低趋势,即 $[\text{C}_6\text{mim}]\text{Br}$ 处理质量浓度越高,对番茄种子发芽的抑制效应越明显.在 $[\text{C}_6\text{mim}]\text{Br}$ 质量浓度 $\geq 9 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,番茄种子的发芽率与对照相比降低了16.80%~24.09%,达到显著性差异.

图2所示,随着 $[\text{C}_6\text{mim}]\text{Br}$ 处理质量浓度的增大,番茄幼苗的根长和苗长依次降低.说明 $[\text{C}_6\text{mim}]\text{Br}$ 对番茄幼苗的生长有明显的抑制作用,且随 $[\text{C}_6\text{mim}]\text{Br}$ 质量浓度的增大抑制作用增强.当处理质量浓度为3 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, $[\text{C}_6\text{mim}]\text{Br}$ 对幼苗根和苗的生长抑制作用不明显,达不到显著差异水平.当质量浓度为6、9、12和15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,番茄幼苗的根长比对照分别下降了89.14%、92.71%、94.65%和95.14%,苗长比对照分别下降了28.03%、33.04%、26.47%和39.97%,均达到极显著差异水平.

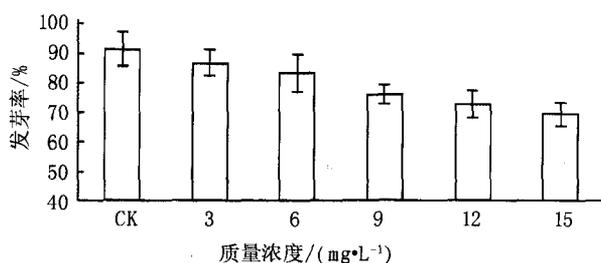


图1 不同质量浓度 $[\text{C}_6\text{mim}]\text{Br}$ 对番茄幼苗根长的影响

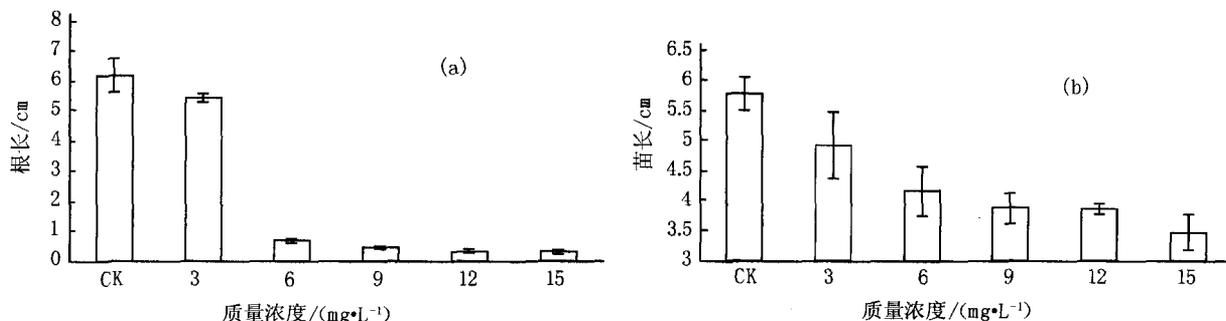


图2 不同质量浓度 $[\text{C}_6\text{mim}]\text{Br}$ 对番茄幼苗苗长的影响

2.2 $[\text{C}_6\text{mim}]\text{Br}$ 对番茄幼苗某些叶片生理生化的影响

2.2.1 $[\text{C}_6\text{mim}]\text{Br}$ 对番茄幼苗叶片叶绿素含量的影响 由图3发现,番茄幼苗叶片中Chla, Chlb和总叶

绿素含量与 $[C_6mim]Br$ 处理质量浓度呈显著负相关.在 $[C_6mim]Br$ 质量浓度为 $9\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,Chla含量比对照减少了27.4%,达到显著性差异,在质量浓度为 $12\sim 15\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时比对照减少了43.7%~58.9%,达到极显著性差异.在 $[C_6mim]Br$ 质量浓度为 $6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,Chlb含量比对照降低12.5%,达到显著性差异,在 $9\sim 15\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时比对照降低了58.6%~75.83%,达到极显著性差异.在 $[C_6mim]Br$ 质量浓度为 $3\sim 6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,番茄幼苗叶片中总叶绿素含量比对照下降17%~26.7%,达到显著性差异,在 $9\sim 15\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时比对照下降了39.8%~60.5%,达到极显著性差异.Chla、Chlb与总叶绿素总含量的下降趋势一致.

2.3.2 $[C_6mim]Br$ 对番茄幼苗叶片中主要抗氧化酶活力的影响

由图4可以看出,随着离子液体质量浓度的升高,番茄幼苗叶片中POD和SOD活力均呈逐渐下降趋势.其中POD活力在 $[C_6mim]Br$ 质量浓度为 $12\sim 15\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时比对照降低了58.62%~62.94%,差异达到极显著水平.SOD活力在 $[C_6mim]Br$ 质量浓度 $6\sim 12\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时比对照降低了12.27%~15.34%,达到显著性差异水平;在 $15\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 比对照降低了19.63%,达到极显著差异水平.

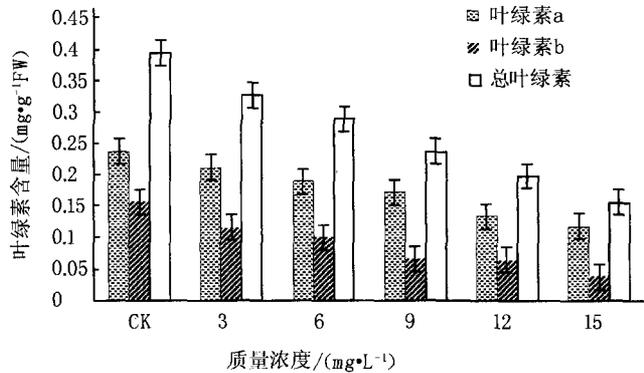


图3 不同质量浓度 $[C_6mim]Br$ 对番茄幼苗叶片中叶绿素含量的影响

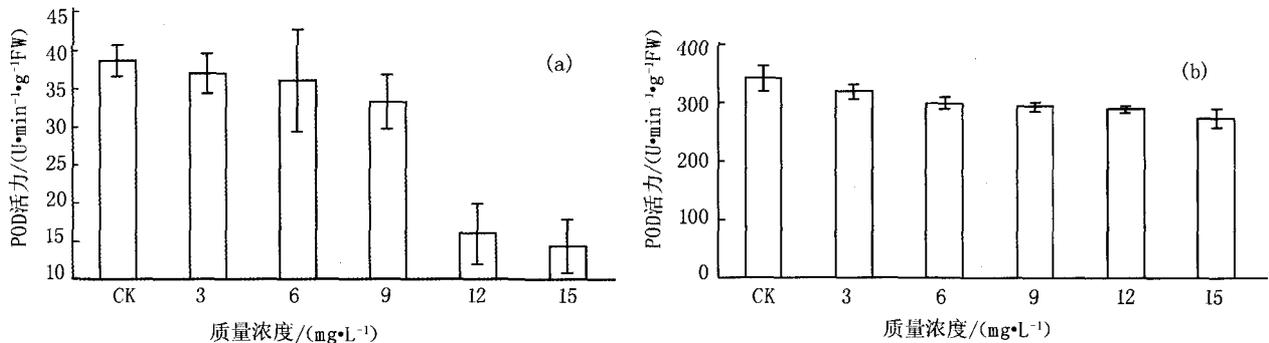


图4 不同质量浓度 $[C_6mim]Br$ 对番茄幼苗叶片中POD活力的影响

2.3.3 $[C_6mim]Br$ 对番茄幼苗叶片 $O_2\cdot^-$ 产生速率和MDA含量的影响

图5(a)所示,随着 $[C_6mim]Br$ 处理质量浓度的增加,番茄幼苗叶片中 $O_2\cdot^-$ 产生速率持续上升,尤其是达 $6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 $O_2\cdot^-$ 产生速率跃升.6~ $15\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组与对照相比增加了174.84%~245.28%,达到极显著性差异水平.图5(b)表明,番茄幼苗叶片中MDA含量随 $[C_6mim]Br$ 处理质量浓度的增大而升高,各 $[C_6mim]Br$ 处理质量浓度下番茄幼苗叶片中MDA的含量与对照相比均达到极显著差异水平.

3 讨论

外界有毒化学物质进入环境后会对动植物产生多方面的影响,其首先表现在生长和生理指标的变化上^[11].杨芬芬等研究了以卤素为阴离子的烷基咪唑类离子液体 $[EMM]Br$ 、 $[BMM]Cl$ 和以烷基硫酸酯、烷基磷酸酯为阴离子等5种离子液体对白菜、黄瓜、玉米3种作物种子发芽及植株生长状况的影响,发现离子液体对3种作物均具有一定的毒害作用,且随着离子液体质量浓度和作用时间的增加而增加;不同作物对离子液体毒性的敏感程度不同;不同离子液体对3种作物的抑制作用也不同^[10].

本研究表明,离子液体的存在使番茄种子萌发受到抑制,且质量浓度越大抑制效果越明显,该结果与上述以及Jastorff等人以 $[bmim][BF_4]$ 和 $[omim][BF_4]$ 两种离子液体处理独行菜种子均降低其发芽率的研究

发现相一致^[17].当种子萌发后,离子液体对根和苗生长的抑制效应仍然表现为随质量浓度的升高而加强的特点,且在相同质量浓度下其对根生长的抑制效应比苗长更加明显.这可能是根系直接接触离子液体,因此受到的毒害影响更强.

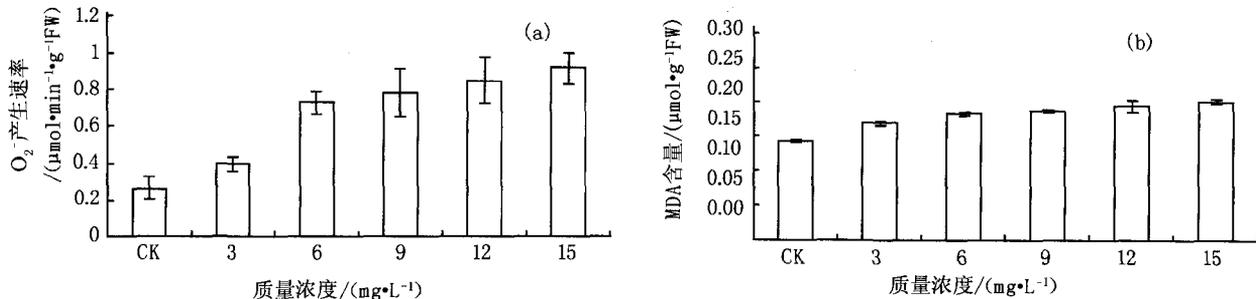


图5 不同质量浓度[C₆mim]Br对番茄幼苗叶片中MDA含量的影响

叶绿素是植物的主要光合色素,叶绿素含量的高低在一定程度上反映了植物的光合作用水平^[18].叶绿素a、b含量的变化可以反映植物光合作用对胁迫的反应程度^[19].本研究发现,[C₆mim]Br处理使番茄幼苗叶片中叶绿素a、b以及总叶绿素含量明显降低,这可能是因为[C₆mim]Br进入叶片细胞后导致活性氧物质对叶绿素和叶绿体结构破坏加剧,并使叶绿素合成相关酶的活性降低等^[20].叶片中光合作用水平降低使其光和产物的积累程度降低,如若大田生产中,对番茄的产量会有较大的影响.

植物体内的SOD和POD是活性氧类物质清除系统中两种重要的保护酶.陈忠林等研究表明,离子液体使小麦幼苗叶片中保护酶的活力降低,且随其质量浓度和作用时间的增加,抑制效应越明显^[11],这与本研究结果相一致.植物体内保护酶活力降低导致叶片中活性氧类物质的大量积累,细胞的生物大分子物质氧化降解,膜脂过氧化使MDA含量增加.由于两种酶主要抗氧化酶的活力在叶片细胞中同时降低,故使MDA含量在[C₆mim]Br很低质量浓度时已与对照达到极显著性差异,并与两种酶的活力呈现明显的负相关变化.说明[C₆mim]Br的存在使番茄的生命活力降低,细胞损伤程度增加,对外界环境的适应能力降低.

总之,本研究发现,较低质量浓度的离子液体[C₆mim]Br对番茄的种子萌发及幼苗生长就具有明显的毒害作用,说明离子液体的绿色安全性应引起人们的进一步关注,在大规模利用之前应慎重选择,并应尽力防止其流入生态环境.

参 考 文 献

- [1] 柯明,周爱国,宋昭峥,等.离子液体的毒性[J].化学进展,2007,19(5):671-679.
- [2] 石家华,孙逊.离子液体研究进展[J].化学通报,2002,65(4):243-250.
- [3] Pham TPT, Cho CW, Yun YS Environmental fate and toxicity of ionic liquids: A review[J]. Water Research,2010,44(2):352372
- [4] David J, Couling, Randall J, et al. Assessing the factors responsible for ionic liquid toxicity to aquatic organisms via quantitative structure-property relationship modeling[J]. Green Chemistry,2006,8:82-90.
- [5] Matsumoto M, Mochiduki K, Kondo K. Toxicity of ionic liquids and organic solvents to lactic acid-producing bacteria[J]. Journal of Bio-science and Bioengineering,2004,98(5):344-347.
- [6] Docherty K M, Kulpa C F. Toxicity and antimicrobial activity of imidazolium and pyridinium ionic liquids[J]. Green Chemistry,2005,7:185-189.
- [7] Balczewski P, Bachowska B, Bialas T, et al. Synthesis and phytotoxicity of new ionic liquids incorporating chiral cations and or chiral anions[J]. Journal of Agric and Food Chemistry,2007,55:1881-1892.
- [8] 李效宇,罗艳蕊,李磊,等.一种离子液体溴化1-辛基-3-咪唑对大型溞摄食强度的影响[J].环境科学学报,2008,28(11):2331-2335.
- [9] Liu Ping, Ding Yifeng, Liu Haiying, et al Toxic effects of 1-methyl-3-octylimidazolium bromide on the wheat seedlings[J]. Journal of Environmental Sciences,2010,22(12):1974-1979
- [10] 杨芬芬,孟洪,李春喜,等.离子液体对三种农作物发芽和生长的毒性研究[J].环境工程学报,2009,3(4):751-754.
- [11] 陈忠林,王洋,关伟,等.离子液体[C₂mim][Val]对小麦幼苗生长及生理特性的影响[J].农业环境科学学报,2011,30(8):1508-1513.
- [12] 李合生.植物生理生化试验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000.

- [13] 王爱国,罗广华.植物的超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系[J].植物生理学通讯,1990,26(6):55-57.
- [14] 张志良,瞿伟菁.植物生理学实验指导[M].4版.北京:高等教育出版社,2009:227-229.
- [15] 陈建勋,王晓峰.植物生理学实验指导[M].广州:华南理工大学出版社,2002:121.
- [16] 刘萍,李明军.植物生理学实验技术[M].北京:科学出版社,2007:147-150.
- [17] Bernd J, Kerstin M, Peter B, et al. Progress in evaluation of risk potential of ionic liquids basis for aneco-design of sustainable products [J]. Green Chemistry, 2005, 7: 362-372.
- [18] Elvira S, Alonso R, Castillo F J, et al. On the response of pigments and antioxidants of *Pinus halepensis* seedlings to Mediterranean climatic factors and long term ozone exposure[J]. New Phytol, 1998, 138: 419-432.
- [19] 郭江波,唐炳,蔡禄,等.砷胁迫对烟草生理特性的影响[J].河南师范大学学报:自然科学版,2013,41(5):144-147.
- [20] 段炼,杜耀,陆秋琳,等.离子液体1-丁基-3-甲基咪唑氯盐对斜生栅藻的毒性效应[J].中国环境科学,2012,32(5):886-889.

Effects of 1-hexyl-3-methylimidazolium Bromide Ionic Liquid on the Germination and Growth of Tomato Seedlings

LIU Ping, WANG Xuerui, DING Yifeng, WANG Tianle,
ZHANG Yan, LU Fang, LYU Baohe, FAN Qiqi

(College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: Effects of different concentrations of 1-hexyl-3-methylimidazolium bromide ionic liquid ($[C_6mim]Br$) (0, 3, 6, 9, 12, 15 $mg \cdot L^{-1}$) on the germination rate of tomato seeds and growth of seedlings were evaluated by hydroponics. In this study, the changes of seed germination, seedling morphology and physiological and biochemical changes in seedling leaves were analyzed. The results showed that seed germination rate was significantly reduced when the concentration of ionic liquid $\geq 9 mg \cdot L^{-1}$ compared with the control group; And when the concentration of ionic liquid $\geq 6 mg \cdot L^{-1}$, root length and shoot length were significantly lower than those of the control. Compared with the control group, chlorophyll contents of tomato seedlings leaves were significantly decreased after treatment of all ionic liquid. And it is extremely significant difference when $\geq 9 mg \cdot L^{-1}$. Superoxide dismutase (SOD) in ionic liquid concentration is 6–12 $mg \cdot L^{-1}$ and 15 $mg \cdot L^{-1}$ were lower than those of the control were significant and extremely significant level. The activity of POD were significantly lower than those of the control when the concentration of ionic liquid $\geq 12 mg \cdot L^{-1}$. When the concentration of ionic liquids $\geq 6 mg \cdot L^{-1}$ and 9 $mg \cdot L^{-1}$, the superoxide anion ($O_2 \cdot^-$) production rate and malonaldehyde (MDA) content in leaves of treatment group were significantly greater than control group and up to a very significant difference. Under this experimental condition, the effect of ionic liquid 1-3-imidazolium bromide salt on the germination and seedling growth of tomato seeds were inhibited significantly.

Keywords: ionic liquid; tomato; seed germination; seedling growth; inhibitory effect