

DOI:10.11937/bfyy.201608001

离子液体 1-己基-3-甲基咪唑溴化盐对 黄瓜种子萌发及幼苗生长的影响

刘 萍, 吕保鹤, 丁义峰, 张 妍, 范琪琪, 刘 克

(河南师范大学 生命科学学院, 河南 新乡 453007)

摘 要:以黄瓜“绿优四号”品种为试材,研究了不同浓度(0、5、10、15、20、25、30 mg/L)的离子液体 1-己基-3-甲基咪唑溴化盐([C₆mim]Br)对其种子萌发、幼苗形态和叶片生理生化的影响。结果表明:不同浓度的离子液体[C₆mim]Br 均不同程度地降低了黄瓜种子的发芽率和发芽势,减小了幼苗的根长和茎长,使幼苗叶片中脯氨酸(Pro)和叶绿素(Chl)含量下降,并且上述抑制效应具有典型的剂量依赖性特点;随着离子液体[C₆mim]Br 浓度的升高,黄瓜幼苗叶片中的超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活力均先升后降,而超氧阴离子自由基(O₂⁻)产生速率和丙二醛(MDA)含量则与保护酶活力呈相呼应的先降后升变化;低浓度的离子液体[C₆mim]Br 可启动保护酶系统的应激保护反应,在一定程度上缓解离子液体[C₆mim]Br 的毒害作用,但是其调节能力有限,当离子液体浓度>15 mg/L 时,随着其浓度的升高,保护酶的活力下降加剧。

关键词:离子液体;黄瓜;种子萌发;幼苗生长;生理生化

中图分类号:S 642.204⁺.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)08-0001-05

离子液体(ionic liquid)一般是由特定的体积相对较大、结构不对称的有机阳离子和体积相对较小的有机阴离子构成的,在室温或接近室温下呈液态^[1]。离子液体具有很高的电化学窗、可设计性强、导电性好等特征,也对许多无机盐或有机物具有良好的溶解性^[2]。随着科学技术的发展,传统的有机溶剂逐步被离子液体取代^[3]。但是,近几年的相关研究表明,离子液体对藻类、微生物、植物、动物均有不同程度的毒性^[4-7]。各种毒理学的试验结果也表明,离子液体对生态系统具有一定毒害作用^[8]。因此,全面分析、合理评价离子液体的生物毒性,对生态环境的安全至关重要。

黄瓜(*Cucumis sativus* L.)属葫芦科黄瓜属植物,也称胡瓜、青瓜、刺瓜、王瓜等。黄瓜栽培历史悠久,是全球主要的蔬菜作物之一,世界各地种植广泛,且品种数不断增加。

该研究主要探究了离子液体[C₆mim]Br 对黄瓜种子萌发和幼苗生长的影响,旨在为离子液体的环境安全

评价以及合理使用提供理论参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

离子液体([C₆mim]Br)由河南师范大学化学化工学院“绿色化学介质与反应”省部共建教育部重点实验室合成。根据该实验室前期大范围浓度梯度的预试验结果和参考同类试验^[9-11]选定离子液体的处理浓度为 0、5、10、15、20、25、30 mg/L。该试验使用的其它全部试剂均为分析纯。供试黄瓜品种“绿优四号”为山东单县番茄研究所研制。

1.2 试验方法

取粒大饱满、外形均匀的黄瓜种子,用蒸馏水清洗 3 遍,然后用 0.1% 的氯化汞消毒 8 min,再用去离子水冲洗 5 次。将清洗后的种子放入装有不同浓度(0、5、10、15、20、25、30 mg/L)离子液体的烧杯中,放置于 28℃、相对湿度 90% 的恒温培养箱中暗处理 24 h,然后将种子摆放到用不同浓度离子液体湿润的铺有 3 层吸水纸的培养皿中,每个浓度重复 3 次,每个培养皿摆放 60 粒种子,每天视情况向培养皿中添加各浓度的离子液体以保湿。7 d 后从每个培养皿中随机挑选发芽一致的幼苗,转移至营养钵中培养,定期向营养钵中添加等量的各浓度离子液体。

1.3 项目测定

种子指标的测定按照国家种子质量检测标准进行,

第一作者简介:刘萍(1958-),女,河南潢川人,本科,教授,现主要从事植物生理学等教学及科研工作。E-mail:Liuping5812@sina.com.

基金项目:河南省重点科技攻关计划资助项目(152102110081, 122102310356)。

收稿日期:2015-12-22

发芽势是指在处理 3 d 时正常发芽种子数占总供试种子数的百分比;发芽率是指在处理 7 d 时正常发芽种子数占总供试种子数的百分比^[12]。当黄瓜幼苗在营养钵中长到第 28 天时,从每个浓度中随机选取 10 株幼苗,用直尺测量每株的茎长和根长,取其平均值^[13]。然后取各浓度黄瓜幼苗所有的叶片,分别用去离子水反复冲洗,再用干净纱布擦干后立即测定各项生理指标。每个处理 3 次重复,不同的试验样品取自不同植株,生理生化指标的测定结果取平均值。

O₂⁻ 产生速率测定采用羟胺氧化法^[14];SOD 活力测定采用氮蓝四唑法^[15];POD 活力测定采用愈创木酚法^[15];Chl 含量测定采用浸提法^[16];MDA 含量测定采用硫代巴比妥酸法^[16];Pro 含量测定采用张宪政^[17]方法。

1.4 数据分析

试验所测的数据用 SPSS 13.0 统计软件进行分析。“***”代表[C₆mim]Br 处理与对照相比有极显著性差异(P<0.01),“*”代表[C₆mim]Br 处理与对照相比有显著性差异(P<0.05)。

2 结果与分析

2.1 [C₆mim]Br 处理对黄瓜种子发芽和幼苗生长的影响

由图 1 可知,随着[C₆mim]Br 处理浓度的升高,黄瓜“绿优四号”种子的发芽势逐渐降低。与对照组相比,25 mg/L[C₆mim]Br 处理组种子发芽势降低了 3.57%,达到显著性差异。30 mg/L[C₆mim]Br 处理组种子发芽势降低了 4.46%,达到极显著性差异。

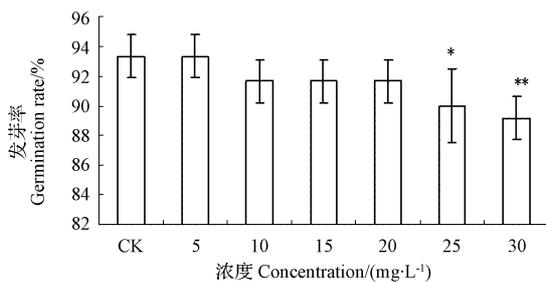


图 1 不同浓度的[C₆mim]Br 对黄瓜种子发芽势的影响
Fig. 1 Effect of different concentration [C₆mim]Br on germination potential of cucumber seed

由图 2 可以看出,离子液体[C₆mim]Br 浓度的升高,使黄瓜“绿优四号”种子发芽率逐渐降低。与对照组比较,5、10、15 mg/L[C₆mim]Br 处理组黄瓜种子发芽率均降低 2.72%,达到显著性差异。20、25、30 mg/L [C₆mim]Br 处理组黄瓜种子发芽率分别降低 3.63%、6.36%、7.27%,达到极显著性差异。

分析图 3 可知,黄瓜“绿优四号”幼苗的茎长随着离子液体[C₆mim]Br 处理浓度的升高逐渐变短。与对照

组比较,30 mg/L[C₆mim]Br 处理组黄瓜幼苗茎长减小了 25.6%,达到极显著性差异。

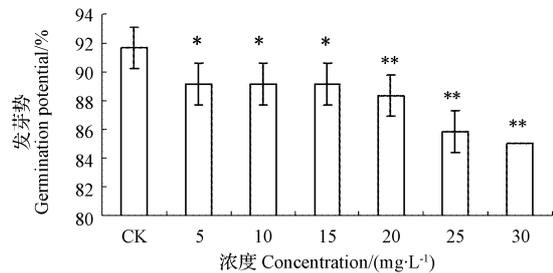


图 2 不同浓度的[C₆mim]Br 对黄瓜种子发芽率的影响
Fig. 2 Effect of different concentration [C₆mim]Br on germination rate of cucumber seed

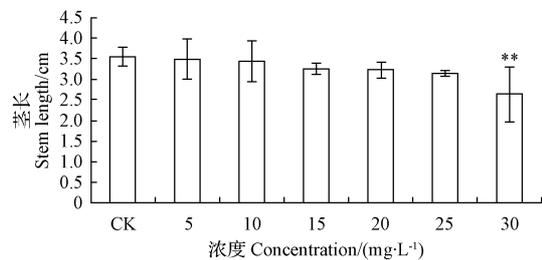


图 3 不同浓度的[C₆mim]Br 对黄瓜幼苗茎长的影响
Fig. 3 Effect of different concentration [C₆mim]Br on stem length of cucumber seedlings

由图 4 可以看出,[C₆mim]Br 对黄瓜“绿优四号”幼苗根长的生长有明显的抑制作用。与对照组相比,10 mg/L [C₆mim]Br 处理组黄瓜幼苗根长减小 12.77%,达到显著性差异。15、20、25、30 mg/L [C₆mim]Br 处理组黄瓜幼苗根长分别降低 24.7%、25.88%、30.92%、55.46%,均达到极显著性差异。

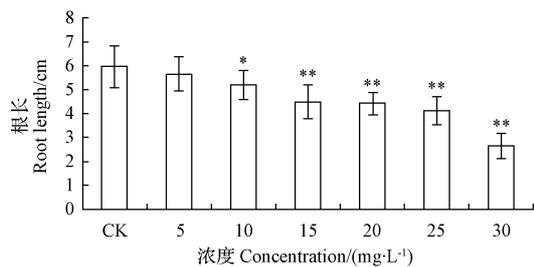


图 4 不同浓度的[C₆mim]Br 对黄瓜幼苗根长的影响
Fig. 4 Effect of different concentration [C₆mim]Br on root length of cucumber seedlings

2.2 [C₆mim]Br 处理对黄瓜幼苗叶片生理生化的影响

2.2.1 [C₆mim]Br 处理对黄瓜幼苗叶片中 Chl 含量的影响 由图 5 分析可知,10、15、20、25、30 mg/L [C₆mim]Br 处理组与对照组相比,黄瓜“绿优四号”幼苗叶片中叶绿素 a 含量分别降低 14.89%、23.27%、24.80%、26.54%、39.79%,均达到极显著性差异;5、10、15、20、25、30 mg/L

[C₆mim]Br 处理组的幼苗叶片中叶绿素 b 含量分别降低 22.56%、27.3%、34.44%、34.89%、36.34%、44.09%，均达到极显著性差异；5、10、15、20、25、30 mg/L [C₆mim]Br 处理组的幼苗叶片中总叶绿素含量分别降低 12.88%、18.67%、26.68%、27.88%、29.53%、41.10%，均达到极显著性差异。

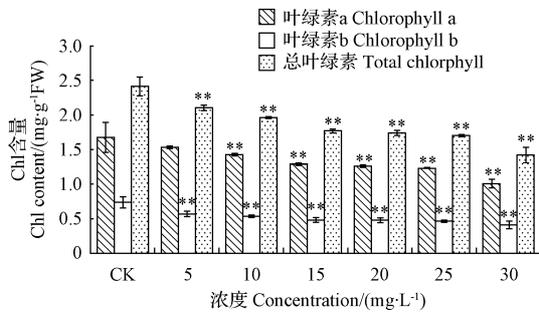


图 5 不同浓度的[C₆mim]Br 对黄瓜幼苗叶片 Chl 含量的影响

Fig. 5 Effect of different concentration [C₆mim]Br on Chl content of cucumber seedling leaves

2.2.2 [C₆mim]Br 处理对黄瓜幼苗叶片中 Pro 含量的影响 从图 6 可以看出,黄瓜“绿优四号”幼苗叶片中 Pro 含量随着 [C₆mim]Br 浓度的升高而降低,5、10、15、20、25、30 mg/L [C₆mim]Br 处理组 Pro 含量分别比对照组降低 20.05%、28.07%、36.76%、42.78%、50.13%、54.14%，均达到极显著性差异。

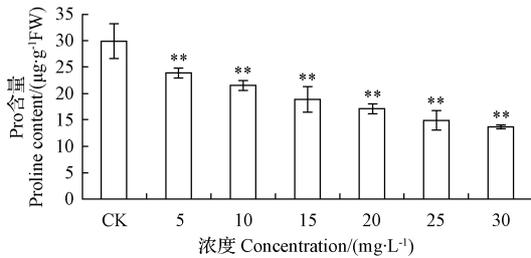


图 6 不同浓度的[C₆mim]Br 对黄瓜幼苗叶片 Pro 含量的影响

Fig. 6 Effect of different concentration [C₆mim]Br on proline content of cucumber seedling leaves

2.2.3 [C₆mim]Br 处理对黄瓜幼苗叶片中 POD 活力的影响 由图 7 可知,黄瓜“绿优四号”幼苗叶片中 POD 活力的变化趋势为先升高后降低的单峰曲线,峰值在 15 mg/L [C₆mim]Br 处理组。与对照组相比,10、15 mg/L [C₆mim]Br 处理组分别升高 44.72%、53.41%，达到极显著性差异。25、30 mg/L [C₆mim]Br 处理组降低 17.70%、38.81%，分别达到显著性差异和极显著性差异。

2.2.4 [C₆mim]Br 处理对黄瓜幼苗叶片中 SOD 活力的影响 由图 8 可以看出,黄瓜“绿优四号”幼苗叶片中

SOD 活力表现出和 POD 活力相似的单峰变化趋势,峰值在 10 mg/L [C₆mim]Br 处理组。15、20、25、30 mg/L [C₆mim]Br 处理组分别比对照降低 10.27%、15.13%、21.62%、24.86%，达到极显著性差异。

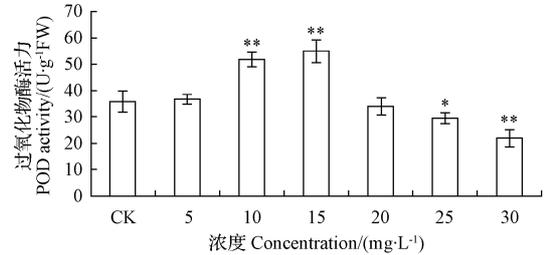


图 7 不同浓度的[C₆mim]Br 对黄瓜幼苗叶片 POD 活力的影响

Fig. 7 Effect of different concentration [C₆mim]Br on POD activity of cucumber seedling leaves

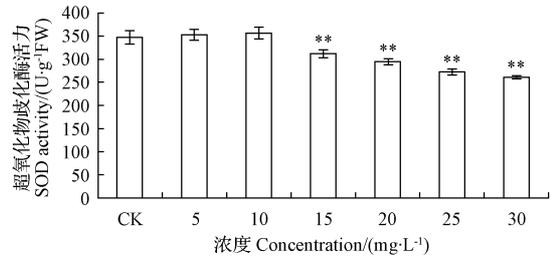


图 8 不同浓度的[C₆mim]Br 对黄瓜幼苗叶片 SOD 活力的影响

Fig. 8 Effect of different concentration [C₆mim]Br on SOD activity of cucumber seedling leaves

2.2.5 [C₆mim]Br 处理对黄瓜幼苗叶片中 O₂⁻ 产生速率的影响 从图 9 可以看出,经 5、10 mg/L [C₆mim]Br 处理后,黄瓜“绿优四号”幼苗叶片中 O₂⁻ 产生速率均比对照组低,但未达到显著性差异。15、20、25、30 mg/L [C₆mim]Br 处理组黄瓜幼苗叶片中 O₂⁻ 产生速率依次比对照组升高 40.78%、50.49%、62.13%、71.84%，均达到极显著性差异。

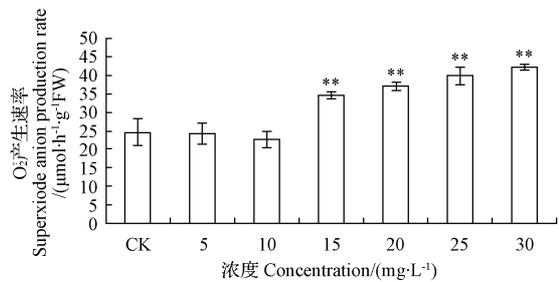


图 9 不同浓度的[C₆mim]Br 对黄瓜幼苗叶片 O₂⁻ 产生速率的影响

Fig. 9 Effect of different concentration [C₆mim]Br on superoxide anion production rate of cucumber seedling leaves

2.2.6 [C₆mim]Br 处理对黄瓜幼苗叶片中 MDA 含量的影响 从图 10 可见,随着离子液体[C₆mim]Br 处理浓度的升高,黄瓜“绿优四号”幼苗叶片中 MDA 含量先降低后升高。5、10、15 mg/L[C₆mim]Br 处理后,黄瓜幼苗叶片中 MDA 含量依次降低,且 10、15 mg/L[C₆mim]Br 处理组使黄瓜幼苗叶片中 MDA 含量分别降低 28.20%、30.03%,达到极显著性差异。20、25、30 mg/L [C₆mim]Br 处理后,黄瓜幼苗叶片中 MDA 含量依次升高,且 30 mg/L[C₆mim]Br 处理组黄瓜幼苗叶片 MDA 含量比对照升高 24.07%,达到极显著性差异。

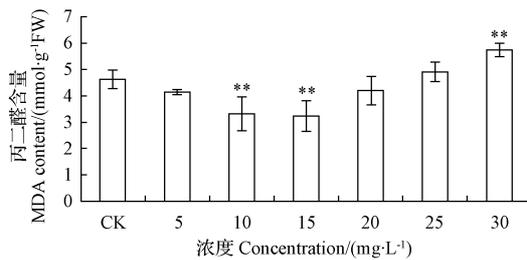


图 10 不同浓度的[C₆mim]Br 对黄瓜幼苗 MDA 含量的影响
Fig. 10 Effect of different concentration [C₆mim]Br on MDA content of cucumber seedling leaves

3 讨论

试验结果表明,随着离子液体[C₆mim]Br 浓度的升高,黄瓜种子的发芽率、发芽势依次降低,这与杨芬芬等^[4]用 5 种离子液体对黄瓜发芽和生长状况影响的研究结果相一致。

叶绿素是植物光合作用中最主要的物质基础^[18],随着离子液体[C₆mim]Br 处理浓度的升高,黄瓜幼苗叶片中的叶绿素含量依次降低,植株的根与茎长度随之下降,说明离子液体有可能通过影响黄瓜幼苗叶片的光合速率进而影响其生长和发育。

Pro 是一种重要的渗透调节物质,同时也可以清除自由基保护细胞结构的完整性,其与植物的抗逆性有很大的关联^[19]。随着[C₆mim]Br 浓度的升高,黄瓜幼苗叶片中的 Pro 含量依次降低且均达到极显著性差异,说明离子液体影响黄瓜幼苗的渗透调节,降低植物对胁迫的耐受力。活性氧自由基是导致植物体衰老的重要物质^[20],而植物体内的 SOD、POD 是活性氧自由基清除系统中 2 种重要的保护酶,SOD 通过歧化反应降解 O₂⁻,POD 则清除 O₂⁻ 歧化生成的 H₂O₂。POD 和 SOD 的活力体现植物抵抗逆境的能力^[21-22]。研究表明,在逆境胁迫条件下,SOD、POD 活力的提高是一种急性解毒措施,是细胞免受毒害的调节反应,但细胞的调节能力是临时和有限的^[23-24]。该试验结果显示,较低浓度(5、10、15 mg/L)的[C₆mim]Br 处理,黄瓜幼苗叶片中 POD 活力均比对照组高,且后二者与对照相组比达到了极显著

性差异水平。随着[C₆mim]Br 浓度的增加,POD 活力则明显下降。SOD 对[C₆mim]Br 的应激敏感性略低于 POD,5、10 mg/L 处理组的 SOD 活力虽然比对照组高,但均未达到显著性差异,当[C₆mim]Br 处理浓度≥15 mg/L 时,SOD 活力下降明显并达到极显著性差异。SOD 活力的升高与降低和 O₂⁻ 产生速率的降低与升高呈明显的呼应关系。离子液体胁迫对黄瓜幼苗叶片 POD 和 SOD 活力影响的变化趋势与陈忠林等^[23]研究的离子液体 1-甲基-3-乙基-咪唑缬氨酸对小麦幼苗 SOD 和 POD 酶活力影响的试验结果相类似。

MDA 是膜脂过氧化产物,其含量的高低显示细胞膜的损伤程度^[24]。随着离子液体处理浓度的升高,黄瓜幼苗叶片的 MDA 含量先降后升,这与保护酶活力在低浓度时表现的应激上调和高浓度时的明显下降相呼应,也与 O₂⁻ 产生速率呈基本一致的变化趋势。该现象说明,高浓度的离子液体处理所导致的保护酶活力的下降,使 O₂⁻ 等活性氧物质在细胞中积累增多,对生物膜造成损伤的程度增高。该结果与陈忠林等^[25]所报道的离子液体 1-丁基-3-甲基咪唑甘氨酸对小麦幼苗的影响相一致。

该研究表明,[C₆mim]Br 处理对黄瓜幼苗表现出毒害作用,并有随着离子液体浓度升高而毒害程度加剧的剂量依赖性特点。所以在离子液体的使用过程中,应尽量控制其通过各种途径流入到农业生态环境的量。

(该文作者还有郭颖颖,单位同第一作者。)

参考文献

- [1] 柏杨,曹晓燕,代军,等. 离子液体分类、合成、表征及应用研究[J]. 当代化工,2010,39(4):445-448.
- [2] KUBOTA K,NOHIRA T,HAGIWARA R,et al. New inorganic ionic liquids possessing low melting temperatures and wide electrochemical windows; Ternary mixtures of alkali bis(fluorosulfonyl) amides[J]. Electrochimica Acta,2012,66:320-324.
- [3] 巫丹,唐悠笛. 浅谈离子液体性质及其应用进展[J]. 河南科技,2013(4):214.
- [4] 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.
- [5] 郭瑾. 离子液体对拟南芥种子萌发及根系发育的影响及机理研究[D]. 镇江:江苏大学,2014.
- [6] 燕帅国,南平,杜启艳,等. 离子液体[C₁₆mim]Cl 对泥鳅的毒性效应[J]. 生态毒理学报,2013,8(1):92-96.
- [7] 许晓霞. 离子液体对集胞藻 6803 的毒性机制研究[D]. 镇江:江苏大学,2013.
- [8] 张春艳,潘志彦. 离子液体在环境保护中的应用及潜在危害[J]. 现代化工,2009,29(3):88-90,95.
- [9] 洪霞,薛永来,戴志聪,等. 1-丁基-3-甲基咪唑三氟乙酸盐对小麦种子萌发和幼苗生长的毒性[J]. 江苏农业科学,2012,40(8):74-77.
- [10] 刘萍,孙莉萍,刘海英,等. 离子液体 1-辛基-3-甲基咪唑溴化盐对小麦种子萌发与幼苗生长的影响[J]. 农业环境科学学报,2008,27(2):425-429.
- [11] 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.
- [12] 聂小琴, 李广悦, 吴彦琼, 等. 镉胁迫对大豆和玉米种子萌发和幼苗生长及 SOD 与 POD 活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(6): 1057-1064.
- [13] 郎志红. 盐碱胁迫对植物种子萌发和幼苗生长的影响[D]. 兰州: 兰州交通大学, 2008.
- [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: 223-224.
- [15] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003: 191-205.
- [16] 刘萍, 李明军. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 39-42, 150-152.
- [17] 张宪政. 作物生理研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1992: 119-218.
- [18] 彭令发, 郝明德, 邱莉萍, 等. 干旱条件下锰肥对玉米生长及光合色素含量的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2004, 22(3): 35-37, 42.
- [19] 郭灿, 黄咏明, 吴强盛, 等. 淹水胁迫下 AM 真菌对桃根系脯氨酸含量及其代谢酶活性的影响[J]. 贵州农业科学, 2015(3): 51-53, 57.
- [20] 田茜, 辛霞, 卢新雄, 等. 植物种子衰老与线粒体关系的研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(2): 283-287.
- [21] 王广慧. 植物 SOD 的分子生物学及其在植物抗逆基因工程中的应用进展[J]. 北方园艺, 2011(3): 194-197.
- [22] 章艳玲, 程纪伦, 李关荣. 栽培条件对半夏叶片 POD、SOD、CAT 活性的影响[J]. 中国农学通报, 2012(4): 211-214.
- [23] 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.
- [24] 王琰, 陈建文, 狄晓艳. 水分胁迫下不同油松种源 SOD、POD、MDA 及可溶性蛋白比较研究[J]. 生态环境学报, 2011(10): 1449-1453.
- [25] 陈忠林, 宋柏, 王洋, 等. 离子液体 1-丁基-3-甲基咪唑甘氨酸盐 [C₄mim][Gly] 对小麦幼苗生长及生理特性的影响[J]. 安全与环境学报, 2011, 11(2): 5-8.

Effects of 1-hexyl-3-methylimidazolium Bromide Ionic Liquid on Seed Germination and Seedling Growth of Cucumber

LIU Ping, LYU Baohe, DING Yifeng, ZHANG Yan, FAN Qiqi, LIU Ke, GUO Yingying
(College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang, Henan 453007)

Abstract: With cucumber 'Lyuyou Fourth' as test material, effect of different concentration of ionic liquids (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 mg/L) 1-hexyl-3-methyl imidazole bromide salts ([C₆mim]Br) influence on seed germination, seedling morphology, physiological and biochemical characteristics of leaf were studied. The results showed that ionic liquid [C₆mim]Br reduced the cucumber seed germination rate and germination potential in different levels, decreased the seedling root and stem length, reduced proline (Pro) and chlorophyll content of seedling leaf, and the above inhibitory effect should have the characteristics of a typical dose dependent. With the ionic liquid [C₆mim]Br concentration increased, superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) vitality in cucumber seedling leaves all increased at first then decreased. Echoing each other at a distance, superoxide anion radicals (O₂⁻) production rate and malondialdehyde (MDA) content decreased at first and then rose. Low concentration of [C₆mim]Br could start stress protective reaction of protective enzyme system, alleviate the ionic liquid [C₆mim]Br's toxic effects in a certain degree, but its ability to regulate was limited, when the concentration of ionic liquids > 15 mg/L of ionic liquids, with the increase of ionic liquid concentration, protective enzyme vigor declined intensively.

Keywords: ionic liquid; cucumber; seed germination; seedling growth; physiology and biochemistry

离子液体特点

知识窗

不挥发、不可燃、导电性强、室温下离子液体的粘度很大(通常比传统的有机溶剂高 1~3 个数量级, 离子液体内部的范德华力与氢键的相互作用决定其粘度。热容大、蒸汽压小、性质稳定, 对许多无机盐和有机物有良好的溶解性, 在电化学、有机合成、催化、分离等领域被广泛的应用。

在与传统有机溶剂和电解质相比时, 离子液体具有一系列突出的优点: 1) 液态范围宽, 从低于或接近室温到 300°C 以上, 有高的热稳定性和化学稳定性; 2) 蒸汽压非常小, 不挥发, 在使用、储藏中不会蒸发散失, 可以循环使用, 消除了挥发性有机化合物 (VOCs, 即 volatile organic compounds) 环境污染问题; 3) 电导率高, 电化学窗口大, 可作为许多物质电化研究的电解液; 4) 通过阴阳离子的设计可调节其对无机物、水、有机物及聚合物的溶解性, 并且其酸度可调至超酸; 5) 具有较大的极性可控性, 粘度低, 密度大, 可以形成二相或多相体系, 适合作分离溶剂或构成反应-分离耦合新体系; 6) 对大量无机和有机物质都表现出良好的溶解能力, 且具有溶剂和催化剂的双重功能, 可以作为许多化学反应溶剂或催化活性载体。由于离子液体的这些特殊性质和表现, 它被认为与超临界 CO₂ 和双水相一起构成三大绿色溶剂, 具有广阔的应用前景。

(摘自: 百度百科)