

杨 苗, 贺俊亚, 孙雨舟, 等. 不同烃链长度咪唑类离子液体对玉米幼苗生长的影响[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(9): 1719–1725.

YANG Miao, HE Jun-ya, SUN Yu-zhou, et al. Effects of imidazolium-based ionic liquids with different hydrocarbon chain length on growth of maize seedlings[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(9): 1719–1725.

不同烃链长度咪唑类离子液体对玉米幼苗生长的影响

杨 苗¹, 贺俊亚¹, 孙雨舟¹, 韩兆雪², 陈晓红², 李亚君^{1*}, 温晓霞^{1*}

(1.西北农林科技大学农学院, 陕西 杨凌 712100; 2.西北农林科技大学生命科学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:为探讨离子液体(ILs)对农业生物的毒性,以典型农作物玉米为材料,采用水培法研究三种不同烃链长度离子液体 1-丁基-3-甲基咪唑氯盐([C₄mim]Cl)、1-己基-3-甲基咪唑氯盐([C₆mim]Cl)和 1-辛基-3-甲基咪唑氯盐([C₈mim]Cl)在不同浓度下对幼苗的根、茎生长以及部分生理生化指标的影响。结果表明:三种离子液体对玉米幼苗根、茎干重均有显著抑制作用。由 EC₅₀ 值得出,抑制程度表现为[C₄mim]Cl<[C₆mim]Cl<[C₈mim]Cl,且对根重的抑制大于茎重。随三种离子液体处理浓度增加,玉米幼苗根、茎抗氧化酶系(SOD、POD、CAT、APX)总体呈下降趋势,而丙二醛(MDA)含量显著升高,表明氧化胁迫可能是离子液体产生毒性的重要原因。

关键词:咪唑类离子液体;烃链长度;玉米;抗氧化酶

中图分类号:X171.5 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2017)09-1719-07 doi:10.11654/jaes.2017-0570

Effects of imidazolium-based ionic liquids with different hydrocarbon chain length on growth of maize seedlings

YANG Miao¹, HE Jun-ya¹, SUN Yu-zhou¹, HAN Zhao-xue², CHEN Xiao-hong², LI Ya-jun^{1*}, WEN Xiao-xia^{1*}

(1.College of Agronomy, Northwest A&F University, Yangling 712100, China; 2.College of Life Science, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

Abstract: Ionic liquids (ILs) are considered as ideal solvents in various chemical processes including organic synthesis, catalytic reactions, and separation engineering. However, the hazardous nature and poor biodegradability property of many ILs increase the risk of becoming potential environmental pollutants. Studies of the toxicity of ILs on crop growth could help assess the potential risks of ILs to field ecosystems. Maize has the largest planting area in China. Herein, the effects of three imidazolium-based ionic liquids ([C₄mim]Cl, [C₆mim]Cl, and [C₈mim]Cl) on the growth of maize seedlings, as well as some physiological and biochemical indexes, were analyzed. The results suggested that the three ionic liquids had significant inhibitory effects on the dry weight accumulation of maize seedling roots and shoots. According to the logistic regression equation, EC₅₀ of ILs for inhibiting maize showed a tendency toward an inhibitory effect: [C₄mim]Cl < [C₆mim]Cl < [C₈mim]Cl. In addition, shoots were inhibited more than roots. Antioxidant enzymes play central roles in plant defense against reactive oxygen species (ROS). The activities of antioxidant enzymes (SOD, POD, CAT, and APX) in maize roots and shoots were analyzed. Generally, the specific activity of the four antioxidant enzymes declined with an increase in IL concentration when exposed to the three ionic liquids. The contents of malondialdehyde (MDA) were significantly increased. The results indicated that oxidative stress may explain the toxic effects of imidazolium-based ILs.

Keywords: imidazolium-based ionic liquids; hydrocarbon chain length; maize; antioxidant enzyme

收稿日期: 2017-04-17

作者简介: 杨 苗(1994—),女,硕士研究生,主要研究方向为玉米逆境生理。E-mail: 350230865@qq.com

*通信作者: 李亚君 E-mail: yajun3725@126.com; 温晓霞 E-mail: wenxiaoxia6811@163.com

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31500439, 31401303)

Project supported: The Young Scientists Fund of the National Natural Science Foundation of China(31500439, 31401303)

离子液体(Ionic Liquids, ILs)是由有机阳离子和无机或有机阴离子组成、室温下呈液体状态的盐。由于具有导电性强、化学性质稳定、不挥发、不易燃等特性,使其在电化学、化学反应和分离过程等领域被广泛应用^[1-2]。伴随着 ILs 的大规模应用,其不可避免的通过水循环等途径进入生态系统,对环境和生物体造成不同程度的影响。咪唑类 ILs 为目前应用最广泛的一类 ILs,并且越来越多的研究表明,咪唑类传统 ILs 的生物降解性较差,对分子(酶)、细胞、微生物、藻类和动植物等均有较显著的毒性^[3-4]。

有关 ILs 的毒性研究主要集中在以下两方面:一是 ILs 对生态系统中各类生物的毒性作用情况;二是 ILs 的阴、阳离子组成及结构对其毒性之影响^[5]。相关研究以生物个体水平的毒性试验为主,并有一些分子、细胞水平的毒性研究。其毒性机理主要与细胞膜结构的破坏以及氧化胁迫有关,例如:Hartmann 等^[6]从基因水平研究了季磷离子液体对构巢曲霉的毒性,发现离子液体毒性作用的主要机制是损坏细胞壁以及增大细胞膜透性;Du 等^[7]分析了离子液体 1-辛基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐([Omim]PF₆)对斑马鱼 *Danio rerio* 的抗氧化酶活性、DNA 损伤等的影响,结果表明离子液体可诱导氧化应激反应和 DNA 损伤,并且程度随时间而累积;牧辉等^[8]研究发现 ILs 对普通小球藻的生长和叶绿素 a 的产生均有显著的抑制作用;Liu 等^[9]在水稻中的研究也发现 ILs 对光合作用及叶绿素代谢具有显著的抑制作用。在所研究的生物类群方面,以水生生物(如藻类、鱼类等)影响的研究居多,对陆生植物的相对较少。

玉米(*Zea mays* L.)是目前我国播种面积最大的农作物,在农田生态系统中具有重要地位。本研究以玉米为实验材料,探究三种不同烃链长度咪唑类 ILs: 1-丁基-3-甲基咪唑氯盐([C₄mim]Cl)、1-己基-3-甲基咪唑氯盐([C₆mim]Cl)和 1-辛基-3-甲基咪唑氯盐([C₈mim]Cl)对玉米幼苗的毒性效应,为综合评价 ILs 对生态环境的潜在危害提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本试验以目前我国广泛种植的玉米品种郑单 958 为材料(北京德农种业)。 $[C_4mim]Cl$ 、 $[C_6mim]Cl$ 和 $[C_8mim]Cl$ 均购自兰州中科凯特科工贸有限公司。

1.2 玉米幼苗培养

幼苗的培养全部在恒温光照培养箱中进行。挑选

均一饱满的玉米种子,用 75%酒精溶液消毒 5 min,蒸馏水多次冲洗后,28 ℃(暗)浸种催芽 12 h,在发芽盒底部铺上双层滤纸,30 mL 蒸馏水浸湿,28 ℃发芽 48 h^[9]。选取发芽均匀一致的种子,每 20 粒一组培养于带孔水培盒上,将种子初生根浸入培养液中培养,培养液为含不同浓度 ILs 的 Hoagland 营养液(pH=6.0)^[10],无曝气装置。培养条件:光照强度 10 000 lx,温度 28 ℃,光照/黑暗周期为 16 h/8 h^[9],培养 6 d,每隔 1 d 更换一次培养液。

1.3 实验设计

玉米幼苗根、茎干重抑制率测定,依据预实验结果(数据未提供)设置: $[C_4mim]Cl$,0、75、200、400、600、800、1000 mg·L⁻¹; $[C_6mim]Cl$,0、10、20、50、100、150 mg·L⁻¹; $[C_8mim]Cl$,0、5、10、25、50、75、100 mg·L⁻¹。

玉米幼苗抗氧化酶系和 MDA 含量测定,参照根、茎生物量抑制情况设置: $[C_4mim]Cl$,0、200、400、600、800 mg·L⁻¹; $[C_6mim]Cl$,0、10、20、30、40 mg·L⁻¹; $[C_8mim]Cl$,0、2、4、6、8 mg·L⁻¹。

以不含 ILs 的 Hoagland 营养液为对照,每处理设 3 组重复。

1.4 测定方法

ILs 对玉米幼苗根、茎重的影响:取培养第 7 d 的玉米幼苗进行测定,根、茎重均为干重(80 ℃烘干 48 h),根据测定结果计算根、茎重抑制率,每处理 10 株重复。采用 Logistic 模型^[11]拟合根/茎干重抑制率-浓度曲线,并计算各处理的 EC₅₀ 值。

抗氧化酶活性和丙二醛(MDA)含量的测定:称取 0.3 g 玉米根/茎鲜样并匀浆,用于酶液的提取,参照李忠光等^[12]的方法进行测定。本研究中所测定的酶活力为比活力,即每毫克可溶性蛋白所含的酶活力单位。可溶性蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝 G250 染色法^[13];超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用 NBT 还原法^[13];过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法^[14];过氧化氢酶(CAT)活性测定参照 Kang 等^[15]的方法;APX 活性参照李忠光等^[12]的方法;MDA 含量测定参照邹琦等^[13]的方法。

1.5 数据统计与分析

用 Origin 7.5 对抑制率进行拟合,模型为 Logistic 模型 $y=(A1-A2)/[1+(x/x_0)^p]+A2$,采用单因素方差分析(ANOVA)并用 LSD 法进行显著性检验。

2 结果与分析

2.1 三种烃链长度 ILs 对玉米幼苗生长的影响

不同浓度 $[C_4mim]Cl$ 、 $[C_6mim]Cl$ 和 $[C_8mim]Cl$ 培养 6 d 后,玉米幼苗根、茎生长均受到明显抑制,表现为植株细弱、侧根不生长等(图 1)。生物量积累是反映植株生长状况的重要指标,对不同浓度的三种 ILs 处理下玉米根、茎生物量进行测定发现,随着 ILs 浓度的增加,其对玉米幼苗根、茎生长的抑制率也逐渐升高。分别对不同浓度下 $[C_4mim]Cl$ 、 $[C_6mim]Cl$ 和 $[C_8mim]Cl$ 处理 6 d 后玉米根、茎重抑制率做曲线,建立玉米幼苗根、茎生长与离子种类及液体浓度的关系,并用 Logistic 模型进行拟合(图 2),计算三种 ILs 分别对玉米根、茎干重抑制的 EC_{50} 值。结果表明, $[C_4mim]Cl$ 、 $[C_6mim]Cl$ 和 $[C_8mim]Cl$ 抑制玉米根生长的 EC_{50} 分别为 194、38.4、2.97 $mg \cdot L^{-1}$,抑制玉米茎生长的 EC_{50} 分别为 369、52.9、23.3 $mg \cdot L^{-1}$ 。不同烃链长度 ILs 对玉米根、茎生长的抑制情况表现为 $[C_4mim]Cl < [C_6mim]Cl < [C_8mim]Cl$,即三种 ILs 对玉米幼苗根、茎生长的抑制作用随着烃链长度的增加而增大,且对根的抑制作用大于茎。

2.2 三种烃链长度 ILs 对玉米幼苗根、茎部抗氧化酶活性的影响

经不同浓度三种 ILs 处理 6 d 后,玉米幼苗根、茎部抗氧化酶活性均发生变化,结果如表 1 至表 3 所

示。玉米幼苗根部 SOD 活性受到显著抑制,SOD 活性随 ILs 浓度的升高而逐渐下降。 $[C_6mim]Cl$ 处理组 SOD 活性表现为先激活后抑制,30 $mg \cdot L^{-1}$ $[C_6mim]Cl$ 处理组 SOD 活性比对照显著提高,随后逐渐下降,而 $[C_8mim]Cl$ 处理组茎部 SOD 活性被显著抑制。与对照相比,800 $mg \cdot L^{-1}$ $[C_4mim]Cl$ 处理组根部 SOD 活性下降 40.4%;50 $mg \cdot L^{-1}$ $[C_6mim]Cl$ 处理组根部 SOD 活性下降 42.2%;8 $mg \cdot L^{-1}$ $[C_8mim]Cl$ 处理组根、茎部 SOD 活性分别下降了 50.8%和 45.8%。

玉米幼苗根、茎部 POD 活性均受到显著抑制,表现为随 ILs 浓度的升高逐渐下降。与对照相比,800 $mg \cdot L^{-1}$ $[C_4mim]Cl$ 处理组根、茎部 POD 活性分别下降 53.7%和 54.7%;50 $mg \cdot L^{-1}$ $[C_6mim]Cl$ 处理组根、茎部 POD 活性分别下降 58.8%和 37.5%;8 $mg \cdot L^{-1}$ $[C_8mim]Cl$ 处理组根、茎部 POD 活性分别下降 54.8%和 18.5%。

随着 ILs 浓度的增加,三种 ILs 处理下玉米幼苗根、茎部 CAT 和 APX 活性均呈逐渐下降趋势。同对照相比,800 $mg \cdot L^{-1}$ $[C_4mim]Cl$ 处理组根、茎部 CAT 活性分别降低 16.7%和 18.6%;50 $mg \cdot L^{-1}$ $[C_6mim]Cl$ 处理组根、茎部 CAT 活性分别降低 79.3%和 12.6%;8 $mg \cdot L^{-1}$ $[C_8mim]Cl$ 处理组根、茎部 CAT 活性分别降低 72.7%和 49.7%;800 $mg \cdot L^{-1}$ $[C_4mim]Cl$ 处理组根、茎部



图 1 三种 ILs 对玉米幼苗形态的影响

Figure 1 Effect of three ILs on morphology of maize seedlings

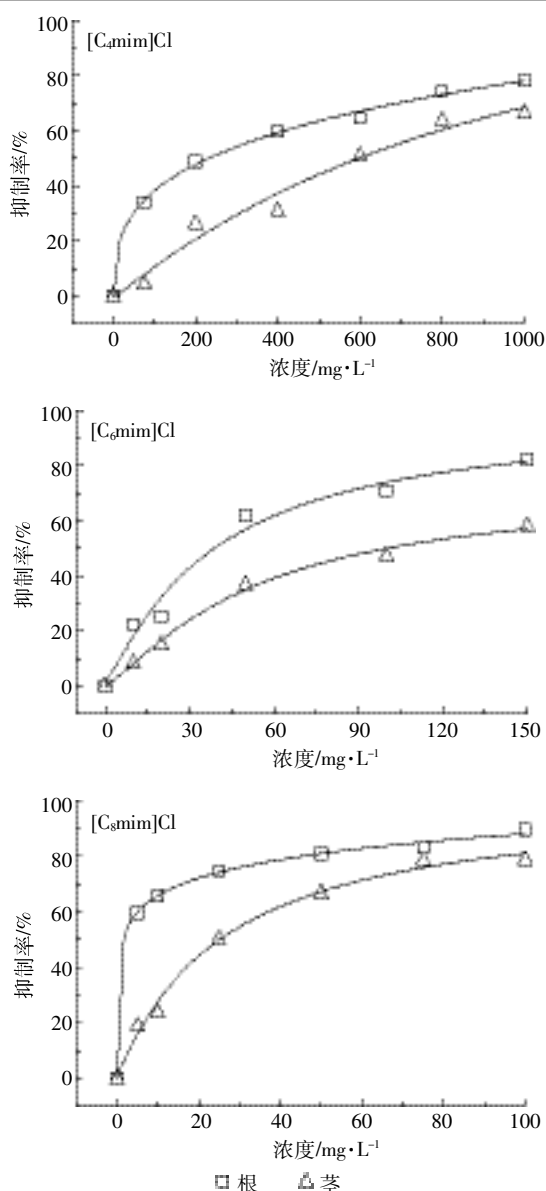


图2 三种ILs对玉米幼苗根/茎生物量的浓度-抑制率曲线
(Logistic model)

Figure 2 Concentration-inhibition rate curves of three ILs treatment on the growth of maize seedling root/shoot

APX活性分别降低8.4%和54.2%;50 mg·L⁻¹ [C₆mim]Cl处理组根、茎部APX活性分别降低21.0%和67.0%;8 mg·L⁻¹ [C₈mim]Cl处理组根、茎部APX活性分别降低29.1%和88.1%。

2.3 三种烃链长度ILs对玉米幼苗根、茎部MDA含量的影响

三种ILs处理组对玉米幼苗根、茎部MDA含量的影响列于表4和表5。玉米幼苗根、茎部MDA含量均随ILs处理浓度的增加而上升。800 mg·L⁻¹ [C₄mim]Cl处理组根、茎部MDA含量为对照组的6.2倍;40 mg·L⁻¹ [C₆mim]Cl处理组根、茎部MDA含量为对照组的5.5倍;8 mg·L⁻¹ [C₈mim]Cl处理组根、茎部MDA含量为对照组的5.1倍。三种ILs处理组MDA含量均显著高于对照组。

3 讨论

ILs毒性与其种类及阴阳离子结构有关。在分子结构上,ILs可能是某些抗生素或除草剂的类似物,从而产生相似的毒性效应^[16-18]。侧链基团是影响ILs毒性的的重要因素。Bubalo等^[19]通过建立定量结构-毒性关系(QSTR)模型,探讨14种带有功能侧链的咪唑类ILs对斑点叉尾鲷卵巢细胞(CCO)的毒性,发现细胞毒性主要与阳离子基团的形状和疏水性相关。Ma等^[20]探讨了阴阳离子组成对海洋发光菌费氏弧菌*Vibrio fischeri*的定量结构-毒性关系,发现阳离子的尺寸、亲脂性及三维分子结构是影响ILs毒性的主要因素。在不同生物中的研究表明,ILs毒性随侧链取代基长度增加而增加^[21-24]。究其原因,取代基链长度增加意味着更高的亲脂性,因此更容易破坏膜结构,对生物体产生不利影响^[25]。本研究取得了相似的结果,三种ILs对玉米根茎生长的抑制作用表现为[C₄mim]Cl<[C₆mim]Cl<[C₈mim]Cl,即侧链取代基链越长,毒性越高。

表1 不同浓度[C₄mim]Cl处理对玉米根/茎抗氧化酶系的影响

Table 1 Effect of [C₄mim]Cl at different concentrations on antioxidant enzyme series

[C ₄ mim]Cl 浓度/ mg·L ⁻¹	SOD 比活力/U·mg ⁻¹ 蛋白		POD 比活力/U·min ⁻¹ ·mg ⁻¹ 蛋白		CAT 比活力/U·min ⁻¹ ·mg ⁻¹ 蛋白		APX 比活力/U·min ⁻¹ ·mg ⁻¹ 蛋白	
	根	茎	根	茎	根	茎	根	茎
0	48.8±0.7a	14.4±0.7bc	1593.5±12.6a	85.6±3.3a	2.27±0.96a	1.83±0.39a	91.8±12.4a	22.7±1.2ab
200	42.8±0.4b	15.0±0.1b	788.6±3.7b	67.4±17.8b	1.86±0.16ab	1.49±0.40a	85.3±3.1ab	20.0±8.3b
400	39.6±3.0b	13.4±1.8bc	654.2±36.7b	59.1±3.4b	1.16±0.34b	1.56±0.05a	81.8±13.1ab	26.6±5.3a
600	25.6±0.7c	13.1±0.5c	596.2±36.7b	53.6±1.7bc	1.58±0.10ab	1.45±0.35a	70.3±4.6b	19.9±8.4b
800	29.1±3.1c	16.5±1.1a	737.7±56.4b	38.8±9.0c	1.89±0.10ab	1.49±0.26a	84.1±2.1ab	10.4±2.9c

注:同列不同小写字母表示0.05水平上差异显著。下同。

Note: Different small letters in the same column represent significant difference at 0.05 level. The same below.

表 2 不同浓度[C₆mim]Cl 处理对玉米根/茎抗氧化酶系的影响
Table 2 Effect of [C₆mim]Cl at different concentrations on antioxidant enzyme series

[C ₆ mim]Cl 浓度/ mg·L ⁻¹	SOD 比活力/U·mg ⁻¹ 蛋白		POD 比活力/U·min ⁻¹ ·mg ⁻¹ 蛋白		CAT 比活力/U·min ⁻¹ ·mg ⁻¹ 蛋白		APX 比活力/U·min ⁻¹ ·mg ⁻¹ 蛋白	
	根	茎	根	茎	根	茎	根	茎
0	48.8±0.7a	14.4±0.7c	1 593.5±12.6a	85.6±3.3a	2.27±0.96a	1.83±0.39a	91.8±12.4a	22.7±1.2a
10	35.9±3.0b	13.6±0.6c	1 267.1±24.3a	73.3±5.0a	0.66±0.14b	1.49±0.67a	84.3±14.2ab	8.9±0.5b
20	26.5±10.1c	16.8±1.2b	908.1±63.3b	47.2±3.1b	0.76±0.42b	1.66±0.50a	59.7±9.2c	6.0±1.7b
30	28.6±2.8c	18.9±1.6a	754.7±56.7b	37.6±7.7b	0.46±0.20b	1.39±0.44a	71.8±6.6bc	6.6±2.6b
40	28.2±1.0c	14.1±0.8c	656.5±34.5b	53.5±6.7b	0.47±0.16b	1.60±0.29a	72.5±3.1abc	7.5±4.3b

表 3 不同浓度[C₈mim]Cl 处理对玉米根/茎抗氧化酶系的影响
Table 3 Effect of [C₈mim]Cl at different concentrations on antioxidant enzyme series

[C ₈ mim]Cl 浓度/ mg·L ⁻¹	SOD 比活力/U·mg ⁻¹ 蛋白		POD 比活力/U·min ⁻¹ ·mg ⁻¹ 蛋白		CAT 比活力/U·min ⁻¹ ·mg ⁻¹ 蛋白		APX 比活力/U·min ⁻¹ ·mg ⁻¹ 蛋白	
	根	茎	根	茎	根	茎	根	茎
0	48.8±0.7a	14.4±0.7a	1593.5±12.6a	85.6±3.3a	2.27±0.96a	1.83±0.39a	91.8±12.4a	22.7±1.2a
2	26.2±2.6b	13.2±0.4ab	764.7±43.8b	58.5±3.1b	0.42±0.22b	1.30±0.23a	91.2±0.7ab	4.1±0.8b
4	26.5±6.7b	11.8±1.1b	758.3±42.8b	63.4±7.2b	0.47±0.31b	0.96±0.24b	77.2±8.1abc	2.3±0.1c
6	24.9±1.6b	12.9±1.0b	588.7±69.5b	55.9±7.3b	0.39±0.26b	1.04±0.13b	68.4±7.6bc	2.6±1.1bc
8	24.0±5.0b	7.8±0.2c	720.3±2.2b	69.8±3.3ab	0.62±0.11b	0.92±0.58b	65.1±19.4c	2.7±0.4bc

表 4 ILs 对玉米根部 MDA 含量的影响
Table 4 Effect of ILs on MDA contents in maize roots

[C ₆ mim]Cl 浓度/ mg·L ⁻¹	MDA 含量/ μmol·g ⁻¹ FW	[C ₆ mim]Cl 浓度/ mg·L ⁻¹	MDA 含量/ μmol·g ⁻¹ FW	[C ₆ mim]Cl 浓度/ mg·L ⁻¹	MDA 含量/ μmol·g ⁻¹ FW
0	0.003 9±0.000 6c	0	0.003 9±0.000 6c	0	0.003 9±0.000 6c
200	0.010 5±0.000 8b	10	0.009 6±0.002 6b	2	0.009 4±0.001 2bc
400	0.018 7±0.001 6a	20	0.011 7±0.000 7b	4	0.011 3±0.000 9abc
600	0.023 2±0.003 9a	30	0.013 3±0.001 7b	6	0.013 1±0.010 1ab
800	0.024 0±0.005 4a	40	0.021 6±0.007 6a	8	0.020 0±0.004 6a

表 5 ILs 对玉米茎部 MDA 含量的影响
Table 5 Effect of ILs on MDA contents in maize stems

[C ₆ mim]Cl 浓度/ mg·L ⁻¹	MDA 含量/ μmol·g ⁻¹ FW	[C ₆ mim]Cl 浓度/ mg·L ⁻¹	MDA 含量/ μmol·g ⁻¹ FW	[C ₆ mim]Cl 浓度/ mg·L ⁻¹	MDA 含量/ μmol·g ⁻¹ FW
0	0.004 8±0.000 8b	0	0.004 8±0.000 8b	0	0.004 8±0.000 8b
200	0.011 8±0.002 0a	10	0.006 3±0.001 0ab	2	0.007 6±0.001 3b
400	0.011 1±0.002 3a	20	0.006 0±0.000 7ab	4	0.011 7±0.001 1a
600	0.009 5±0.001 8a	30	0.008 4±0.004 2a	6	0.013 4±0.001 3a
800	0.011 0±0.001 1a	40	0.006 6±0.001 3ab	8	0.013 4±0.004 4a

ILs 对生长的影响并非完全不利。Chen 等^[26]发现 [C₂mim][OAc] 添加可以对小麦 Cd²⁺胁迫起到明显的缓解作用,原因是 [C₂mim][OAc] 能够与 Cd²⁺ 结合而使其钝化。Pernak 等^[18]发现 ILs 因具有与植物生长调节剂矮壮素 (CCC) 类似的结构而使其具有相似的生物活性。段炼等^[27]研究 [C₄mim]Cl 对藻类的毒性作用时发现,在较低浓度情况下, [C₄mim]Cl 在处理最开始的一

段时期内对斜生栅藻的生长表现为轻微的促进作用,之后逐渐转为抑制,这暗示了 ILs 对生物生长的影响可能具有更复杂的生理机制。
植物在正常生理代谢过程或不良逆境胁迫下均存在活性氧 (ROS) 类物质的释放,包括 H₂O₂、-OH、O₂· 等,ROS 通常来源于线粒体、叶绿体和过氧化物体,一般为代谢副产物^[17]。植物在干旱、盐碱、冷冻、病虫害

等不良逆境条件下,均可发生 ROS 的过量积累,引起细胞发生中毒反应,如对生物大分子的破坏及生物膜的过氧化等^[25,28]。正常情况下,植物通过抗氧化酶系统(如 SOD、POD、CAT 和 APX 等)或一些抗氧化物质(如谷胱甘肽、抗坏血酸等)清除自身代谢产生的 ROS,使其维持在较低的水平^[9]。逆境胁迫会对植物 ROS 代谢产生双重不利影响:一方面,逆境胁迫会刺激 ROS 的大量产生;另一方面,逆境胁迫下植物自身生理机能衰退,ROS 清除能力亦受到限制^[29]。

抗氧化酶系统在植物 ROS 清除过程中发挥着重要作用,其中 SOD 参与将 $O_2\cdot$ 转化为 O_2 和 H_2O_2 ^[30],而 POD、CAT 则参与将 H_2O_2 分解为 O_2 和 H_2O ,APX 参与将抗坏血酸作为电子供体消除 H_2O_2 的过程^[9]。在本研究中,随着三种 ILs 处理浓度的增加,根/茎 SOD、POD、CAT 和 APX 比活力总体呈逐渐下降趋势。可见,尽管三种 ILs 毒性大小不同,但对玉米幼苗可能具有相同的毒性机理,即引起抗氧化酶活性降低。上述变化趋势与 Bubalo 等^[25]在小麦中以及 Liu 等^[9]在水稻中的研究一致。此外, $[C_6mim]Cl$ 处理下茎部 SOD 活性随浓度增加呈现先上升后下降的规律。这可能与低浓度下 ROS 积累引起 SOD 活性的“刺激作用”有关^[31],类似的趋势在其他文献中也有报道^[11]。

抗氧化酶活性下降可能会引起植物体内 ROS 的大量积累,这些活泼 ROS 极易对生物膜上的重要结构——脂肪酸分子造成破坏,导致质膜过氧化,同时产生有毒的醛类物质。MDA 是膜脂过氧化的最终产物,在植物中,MDA 的积累通常作为反映质膜过氧化程度或植物遭受胁迫程度的重要指标。本研究中,三种 ILs 处理均引起玉米幼苗根、茎 MDA 含量显著增加,表明 ILs 处理引起玉米质膜过氧化,对根、茎造成伤害。质膜过氧化很可能与 ROS 的过量积累有关,而这也与抗氧化酶系统活性下降的结果相符。综上所述,三种咪唑类 ILs 对玉米幼苗的毒性机理很可能与抗氧化酶活性下降,以及膜脂过氧化有关,反映出 ILs 对植物的影响与干旱、高盐、冷冻或病虫害等环境胁迫具有相似的作用特点。考虑到不同 ILs 间特殊分子结构及其在工业生产中的重要作用,有关 ILs 对农业生物的综合影响还有待更详尽和深入的探讨。

4 结论

(1) 三种 ILs ($[C_4mim]Cl$ 、 $[C_6mim]Cl$ 和 $[C_8mim]Cl$) 对玉米幼苗根、茎生长具明显抑制作用,表现为侧链取代基越长,毒性越高;同一种 ILs 处理下对根重的

抑制率大于茎重。

(2) 总体而言,随浓度增加三种 ILs 对抗氧化酶系统(SOD、POD、CAT 和 APX)活性在根、茎中均表现为抑制趋势,且根、茎部 MDA 含量显著增加。

参考文献:

- [1] Stock F, Hoffmann J, Ranke J, et al. Effects of ionic liquids on the acetylcholinesterase: A structure-activity relationship consideration[J]. *Green Chemistry*, 2004, 6(6): 286-290.
- [2] Stepnowski P, Zaleska A. Comparison of different advanced oxidation processes for the degradation of room temperature ionic liquids[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2005, 170(1): 45-50.
- [3] Coleman D, Gathergood N. Biodegradation studies of ionic liquids[J]. *Chemical Society Reviews*, 2010, 39(2): 600-637.
- [4] Liu T, Zhu L S, Wang J H, et al. The genotoxic and cytotoxic effects of 1-butyl-3-methylimidazolium chloride in soil on *Vicia faba* seedlings[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, 285: 27-36.
- [5] Zhao Y S, Zhao J H, Huang Y, et al. Toxicity of ionic liquids: Database and prediction via quantitative structure-activity relationship method[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2014, 278: 320-329.
- [6] Hartmann D O, Pereira C S. A molecular analysis of the toxicity of alkyl-tributylphosphonium chlorides in *Aspergillus nidulans*[J]. *New Journal of Chemistry*, 2013, 37(5): 1569-1577.
- [7] Du Z K, Zhu L S, Dong M, et al. Effects of the ionic liquid $[O_mim]PF_6$ on antioxidant enzyme systems, ROS and DNA damage in zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Aquatic Toxicology*, 2012, 124/125: 91-93.
- [8] 牧辉, 彭新晶, 戴宁, 等. 离子液体 $[C_8mim]PF_6$ 对水生生物的毒性作用[J]. 中国环境科学, 2009, 29(11): 1196-1201.
MU Hui, PENG Xin-jing, DAI Ning, et al. Toxicity of $[C_8mim]PF_6$ to aquatic organisms[J]. *China Environmental Science*, 2009, 29(11): 1196-1201.
- [9] Liu H J, Zhang S X, Zhang X Q, et al. Growth inhibition and effect on photosystem by three imidazolium chloride ionic liquids in rice seedlings[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, 286: 440-448.
- [10] 常福辰, 陆长海, 沙莎. 植物生物学实验[M]. 南京: 南京师范大学出版社, 2007: 241.
CHANG Fu-cheng, LU Chang-hai, SHA Sha. The plant biology experiment[M]. Nanjing: Nanjing Normal University Press, 2007: 241.
- [11] Liu H J, Zhang S X, Hu X N, et al. Phytotoxicity and oxidative stress effect of 1-octyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquid on rice seedlings[J]. *Environmental Pollution*, 2013, 181: 242-249.
- [12] 李忠光, 李江鸿, 杜朝昆, 等. 在单一提取系统中同时测定五种植物抗氧化酶[J]. 云南师范大学学报, 2002, 22(6): 44-48.
LI Zhong-guang, LI Jiang-hong, DU Chao-kun, et al. Determination simultaneously of five plant antioxidant enzymes in a single extraction system[J]. *Journal of Yunnan Normal University*, 2002, 22(6): 44-48.
- [13] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 163-164.
ZOU Qi. Guidelines of plant physiology experiments[M]. Beijing:

- China Agriculture Press. 2003; 163–164
- [14] Zaharieva T, Yamashita K, Matsumoto H. Iron deficiency induced changes in ascorbate content and enzyme activities related to ascorbate metabolism in cucumber roots[J]. *Plant and Cell Physiology*, 1999, 40(3): 273–280.
- [15] Kang H M, Saltveit M E. Effect of chilling on antioxidant enzymes and DPPH–radical scavenging activity of high- and low-vigour cucumber seedling radicles[J]. *Plant Cell and Environment*, 2002, 25(10): 1233–1238.
- [16] Docherty K M, Kulpa Jr C F. Toxicity and antimicrobial activity of imidazolium and pyridinium ionic liquids[J]. *Green Chemistry*, 2005, 7(4): 185–189.
- [17] Li H Q, Yu C C, Chen R, et al. Novel ionic liquid–type Gemini surfactants: Synthesis, surface property and antimicrobial activity[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2012, 395: 116–124.
- [18] Pernak J, Niemczak M, Materna K, et al. Ionic liquids as herbicides and plant growth regulators[J]. *Tetrahedron*, 2013, 69(23): 4665–4669.
- [19] Bubalo M C, Radosevic K, Sreck V G, et al. Cytotoxicity towards CCO cells of imidazolium ionic liquids with functionalized side chains: Preliminary QSTR modeling using regression and classification based approaches[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2015, 112: 22–28.
- [20] Ma S Y, Lv M, Deng F F, et al. Predicting the ecotoxicity of ionic liquids towards *Vibrio fischeri* using genetic function approximation and least squares support vector machine[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, 283: 591–598.
- [21] Jastorff B, Mölter K, Behrend P, et al. Progress in evaluation of risk potential of ionic liquids: Basis for an eco-design of sustainable products [J]. *Green Chemistry*, 2005, 7(5): 362–372.
- [22] Ranke J, Mölter K, Stock F, et al. Biological effects of imidazolium ionic liquids with varying chain lengths in acute *Vibrio fischeri* and WST-1 cell viability assays[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2004, 58(3): 396–404.
- [23] Studzińska S, Buszewski B. Study of toxicity of imidazolium ionic liquids to watercress (*Lepidium sativum* L.)[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2009, 393(3): 983–990.
- [24] Zhang B J, Li X Y, Chen D D, et al. Effects of 1-octyl-3-methylimidazolium bromide on the antioxidant system of *Lemna minor*[J]. *Protoplasma*, 2013, 250(1): 103–110.
- [25] Bubalo M C, Hanousek K, Radosevic K, et al. Imidazolium based ionic liquids: Effects of different anions and alkyl chains lengths on the barley seedlings[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2014, 101: 116–123.
- [26] Chen Z L, Feng Y Y, Wang J, et al. Effects of [C₂mim][OAc] (1-Ethyl-3-methyl-imidazolium acetate) on the growth of wheat seedlings under Cd²⁺ stress[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2014, 92(6): 714–718.
- [27] 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): 886–891.
- DUAN Lian, DU Yao, LU Qiu-lin, et al. Toxicity of 1-butyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquid to *Scenedesmus obliquus* [J]. *China Environmental Science*, 2012, 32(5): 886–891.
- [28] 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.
- CHEN Zhong-lin, WANG Yang, GUAN Wei, et al. Effects of ionic liquid [C₂mim][Val] on the growth and physiological characteristics of wheat seedlings[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(8): 1508–1513.
- [29] Sanevas N, Sunohara Y, Matsumoto H. Characterization of reactive oxygen species-involved oxidative damage in hapalosiphon species crude extract-treated wheat and onion roots[J]. *Weed Biology and Management*, 2007, 7(3): 172–177.
- [30] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance[J]. *Trends in Plant Science*, 2002, 7(9): 405–410.
- [31] 姚远, 李锋民, 李媛媛, 等. 水生植物热解生物油对中肋骨条藻抗氧化酶活性的影响[J]. *环境科学*, 2013, 34(2): 589–595.
- YAO Yuan, LI Feng-min, LI Yuan-yuan, et al. Effects of macrophytes pyrolysis bio-oil on *skeletonema costatum* antioxidant enzyme activities[J]. *Environmental Science*, 2013, 34(2): 589–595.