

鬼针草对土壤中铀的胁迫响应机制及螯合剂的影响作用研究

吴仁杰^{1,2}, 刘 刘¹, 李建国^{2,*}

(1. 中国原子能科学研究院, 北京 102413; 2. 中国辐射防护研究院, 山西 太原 034000)

摘要: 环境中铀污染会对植物产生伤害, 即产生胁迫作用。为探究鬼针草 (*Bidens pilosa* L.) 对土壤中铀的胁迫响应机制以及螯合剂对其富集铀的影响, 本文通过开展铀污染土壤修复实验, 研究了鬼针草在螯合剂与铀作用下的表型、生理及叶绿素荧光等参数以及对铀的富集能力。结果显示, 随着铀浓度的升高, 鬼针草的可溶性蛋白和丙二醛(MDA)含量及过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性呈先升后降的趋势。最大量子产额(Fv/Fm)与非光化学猝灭系数(NPQ)随铀浓度的升高显著降低, 而实际量子产额(Φ PS II)则随铀浓度的升高逐渐增加; 施加螯合剂后, 鬼针草对铀的富集能力显著提升。低浓度螯合剂可促进可溶性蛋白、POD和CAT的合成, 降低MDA含量。同时, 低浓度螯合剂可以提高鬼针草的Fv/Fm与 Φ PS II值, 但会影响植物PS II的开放中心结构, 导致光保护系统受损; 高浓度螯合剂会直接导致植物死亡。结合实验结果, 若以鬼针草作为铀污染土壤植物修复材料, 通过施加柠檬酸提高鬼针草对铀的富集能力, 推荐施加浓度为10 mmol/kg。

关键词: 鬼针草; 植物修复; 铀; 螯合剂; 生理参数

中图分类号: TL99; X53

文献标志码: A

文章编号: 1000-6931(2024)10-2077-11

doi: 10.7538/yzk.2024.youxian.0373

Stress Response of *Bidens pilosa* L. to Uranium in Soil Influenced by Chelating Agents and Its Mechanism

WU Renjie^{1,2}, LIU Yi¹, LI Jianguo^{2,*}

(1. China Institute of Atomic Energy, Beijing 102413, China;

2. China Institute for Radiation Protection, Taiyuan 034000, China)

Abstract: Phytoremediation is an environmentally friendly and highly promising method for soil remediation, with the core issue being the selection of suitable plants and applicable conditions. During the remediation of uranium-contaminated environments, the enrichment of uranium adversely affects the normal growth of plants, causing stress effects. This study aimed to explore the stress response mechanism of *Bidens pilosa* L. to uranium in the soil and the influence of chelating agents on its uranium enrichment capacity through experiments on the remediation of uranium-contaminated soil. The phenotypic, physiological, and chlorophyll fluorescence parameters of *Bidens pilosa* L., as well as its uranium enrichment capacity, were studied under the influence of chelating agents and uranium. The

收稿日期: 2024-04-30; 修回日期: 2024-06-16

基金项目: 国家重点研发计划(2020YFC1806603)

* 通信作者: 李建国

results show that with the increase of uranium concentration, the levels of soluble protein, malondialdehyde (MDA), peroxidase (POD), and catalase (CAT) in *Bidens pilosa* L. first increase and then decrease. The maximum quantum yield (Fv/Fm) and non-photochemical quenching coefficient (NPQ) significantly decrease with the increase of uranium concentration, while the actual quantum yield ($\Phi_{PS II}$) gradually increases. The application of chelating agents significantly enhances the uranium enrichment capacity of *Bidens pilosa* L. Low concentrations of chelating agents promote the synthesis of soluble protein, POD, and CAT, and reduce MDA content. Additionally, low concentrations of chelating agents increase the Fv/Fm and $\Phi_{PS II}$ values of *Bidens pilosa* L. However, they could also affect the open center structure of PS II in plants, leading to the damage of the photoprotection system. High concentrations of chelating agents could directly cause plant death. In terms of enrichment capacity, when the soil uranium concentration is 50 mg/kg, under the action of 20 mmol/kg oxalic acid, *Bidens pilosa* L. achieves a maximum total enrichment coefficient of 6.29, with an above-ground part enrichment coefficient of 4.26 and a transfer coefficient of 2.09, exceeding the lower limits defined for hyperaccumulator plants. Thus, it can be defined as a hyperaccumulator plant, but under these conditions, *Bidens pilosa* L. does not survive for more than 24 h. Therefore, if *Bidens pilosa* L. is used as a phytoremediation material for uranium-contaminated soil, the application of 10 mmol/kg citric acid can enhance its uranium enrichment capacity while ensuring better survival rates. The above results indicate that by adjusting the concentration of chelating agents, it is possible to effectively increase the uranium enrichment efficiency of *Bidens pilosa* L. while minimizing damage to the plant itself, thereby playing a more significant role in the remediation of uranium-contaminated soils. Furthermore, understanding the precise biochemical and physiological responses of *Bidens pilosa* L. to uranium stress and chelating agents can help in developing more refined strategies for using this plant in various contaminated environments. This deeper insight into the plant's response mechanisms also opens up avenues for interventions to enhance its resilience and accumulation capacity, making phytoremediation a more viable and efficient option for large-scale environmental cleanup efforts.

Key words: *Bidens pilosa* L.; phytoremediation; uranium; chelator; biological parameter

由于铀矿冶工业的特殊性和早期污染防治措施的欠缺,造成铀矿区周边大范围的土壤铀污染^[1],铀污染土壤一方面会对该地区环境造成长期辐射危害,同时导致患骨肉瘤的概率大幅上升^[2];另一方面,土壤中的铀会通过食物链最终在人体内富集。有研究^[2]表明,铀的摄入会对人体的肾脏造成损害。因此,开展铀矿区大面积铀污染控制及治理技术和工程应用研究十分紧迫。

常规的物理化学修复方法用于铀矿区大面积的土壤修复工程难度较大^[3],而植物修复是一种原位修复大面积放射性污染土壤的有效方法^[4],是近年来一种新兴修复方法。该方法能够在不破坏当地生态环境的条件下对污染场所进行修复,成本低廉,无二次污染的风险^[5]。目前国内外的研究主要集中在寻找自身富集能力强的植物^[6-8]以及通过其他辅助手段如利用螯合剂^[9-11]、微生

物^[12-13]或建立植物共生体系^[14-15]等方法强化已知具备生长优势植物的富集能力两个方向。筛选出如四季豆^[6]、印度芥菜以及向日葵^[7]等对铀具有富集作用的植物。

关于植物修复机制的研究表明,植物对重金属元素的胁迫响应机制大体为3种^[16]:植物通过根际细胞释放多种根系分泌物,改变重金属离子形态,增加溶解度(回避机制,第一防线);当重金属离子通过细胞膜进入细胞后,与游离态的有机酸等其他螯合物形成络合物后被转移到液泡或嵌入细胞壁,从而降低重金属离子对植物的细胞器及细胞核的破坏(耐受机制,第二防线);当回避与耐受机制失效时,植物通过产生对应的抗氧化酶、非酶类抗氧化化合物等其他抗氧化物质来清除由于过量的金属元素所产生的活性氧(ROS)。螯合剂(如柠檬酸和草酸)增强植物修复作用的机

理主要为螯合剂与土壤颗粒上吸附的铀离子发生螯合反应,生成水溶性的螯合剂-铀复合物,这些复合物被释放到土壤溶液中,而后者是植物根系与土壤元素接触的直接媒介。通过这种方式,螯合剂改变了土壤中铀的化学形态,并增强了其生物可用性,从而有效提升植物根部对铀的吸收效率^[17]。

鬼针草(*Bidens pilosa* L.)是一种菊科一年生草本植物,广泛分布于我国华东、华中、华南以及西南各省区,生长及繁殖能力强^[18]。国内外目前关于鬼针草修复铀污染的研究较少,有学者研究了鬼针草对含铀废水中铀的富集能力,结果表明鬼针草的根、茎和叶部分对铀都有很好的富集能力,在其实验条件下对铀的富集能力最高可达1 538 mg/kg(干重)^[19]。本文在前期对铀矿区现场植物筛选工作的基础,选择生物量大、生长周期短、繁殖能力强以及铀富集能力相对较高的鬼针草作为研究对象,研究不同浓度铀及螯合剂对鬼针草生理参数及铀富集能力的影响,为鬼针草修复铀污染土壤提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料

实验土壤:使用拟修复场地所在县市未污染土壤(铀本底水平 3.0 mg/kg)作为实验土壤,在现场采集后采用陆运方式运回实验室,并于实验前在 105 ℃ 烘箱内烘干 48 h,去除其中的残留草籽。实验土壤设置铀浓度梯度为空白组(CK)和 50、100、200 mg/kg 组,使用 $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 配置铀标准溶液(1 g/L)后,按照上述浓度设置将铀标准溶液均匀喷洒在土壤中,平衡 2 周备用。

鬼针草种子:市售产品,挑选颗粒饱满、形态正常的鬼针草种子,用 75% 乙醇消毒处理后再用去离子水冲洗 3 次。

1.2 实验方法

取鬼针草种子在人工高照度阳光气候室内进行污染土壤模拟修复盆栽实验,阳光气候室温度设置为 7:00—19:00, 25 ℃; 19:00—7:00, 20 ℃;湿度与 CO_2 浓度设置为自动;不进行补光操作;每盆装实验土壤 4.0 kg,每组设置 8 个平行样,每天浇水 1 次;生长 60 d 后收获。实验结束前 1 周加入柠檬酸(CA)与草酸(OA),柠檬酸与草酸浓度梯

度设置为空白组(0 mmol/kg)及 5、10、20 mmol/kg 组(记为 CA-0、CA-5、CA-10、CA-20 和 OA-0、OA-5、OA-10、OA-20)。收获后的鬼针草用去离子水冲洗干净,区分地上部分与根部,在 105 ℃ 下烘至恒重,粉碎并过 200 目筛,得到鬼针草样品,同时采集对应土壤样品。

实验过程中由于 200 mg/kg 铀浓度下植物生物量较少,不足以进行后续样品数据测量,故将 200 mg/kg 条件下的实验更改为只加入 5 mmol/kg 的柠檬酸与草酸以提高样品量。

1.3 参数测量及数据处理方法

1) 植物表型测量

(1) 株高测量:以土壤表面为起点、植物顶端叶片为终点,将植物拉直后用刻度尺进行测量。

(2) 植物叶面积测量:由于每盆植物生长不同,将植株分为大(L)、中(M)、小(S)3组,采集鬼针草顶端叶片。使用 Opencv 对叶片图像进行灰度处理,获得标准图形的黑色像素 p_1 和叶片的黑色像素 p_2 ,按 $S=p_2/p_1$ 计算叶面积 S 。

(3) 单株叶片数:挑选生长情况良好的植物,记录土壤表面之上植株的所有叶片数。

2) 抗氧化酶逆境胁迫体系测量

采用相应蛋白检测试剂盒测量可溶性蛋白和丙二醛(MDA)含量及过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性。

3) 叶绿素荧光参数测量

使用 Eco-watch 野外生态监测系统中叶绿素荧光系统测量叶绿素荧光参数 F (任意时间实际荧光产量)、 F_0 (初始荧光产量)、 F_m' (最大有效荧光产量)及 F_m (最大荧光产量)。 F 及 F_m' 的测量时间为 10:00, F_0 及 F_m 的测量时间为 19:00,每盆植物挑选顶端叶片,夜间测量时采用绿光源防止激活植物光合系统。

4) 铀含量测量

样品送至核工业北京地质研究院,参照《食品安全国家标准》(GB 5009.268—2016)^[20] 食品中多元素测定方法测定铀含量。

5) 土壤理化性质测量

土壤样品送至清华大学参照文献[21-30]方法分析样品的理化性质参数,结果如表 1 所列。使用 SPSS 26.0 以及 Origin Pro 2021 进行数据处理。

表 1 实验土壤理化参数

Table 1 Physico-chemical parameters of experimental soil

参数	数值
pH	5.03~6.06
有机质, g/kg	19.94~71.41
全氮, g/kg	0.81~2.76
水溶性盐, g/kg	0.0~0.4
全磷, g/kg	0.000 3~0.006 8
全钾, g/kg	0.096~0.425
总砷, g/kg	0.392~1.100
总铅, g/kg	4.94~10.50
总镉, g/kg	0.007 4~0.017 4
总铬, g/kg	1.35~5.73
总铜, g/kg	1.03~1.59
总锌, g/kg	8.21~11.70

2 结果与讨论

2.1 铀胁迫对鬼针草表型参数的影响

植物的株高、叶面积及单株叶片数可以直观反映污染物对植物生长情况的影响,实验开始 53 d 后鬼针草在不同铀浓度下的生长情况及单株叶片对比如图 1 所示,株高、叶面积及单株叶片数如

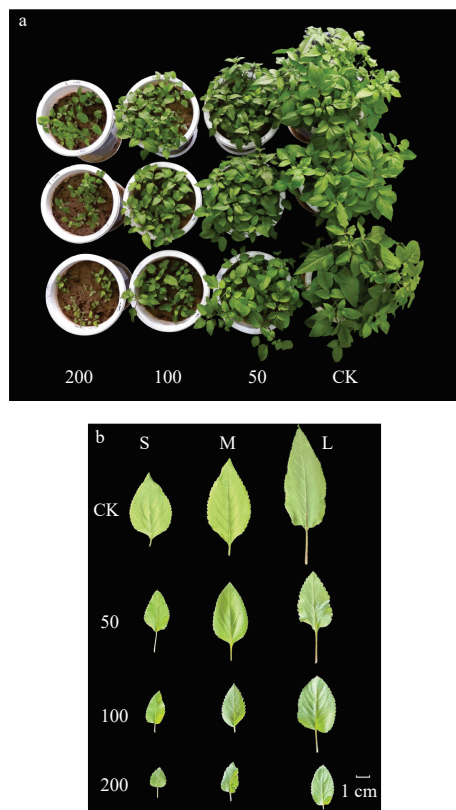


图 1 不同铀浓度下植物生长情况(a)及叶片面积(b)

Fig. 1 Plant growth (a) and leaf area (b) at different uranium concentrations

图 2 所示。因加入不同浓度的螯合剂后,低浓度螯合剂作用时间较短,植物表型未出现变化,而高浓度螯合剂直接导致植物死亡,故无螯合剂加入后对植物表型影响的数据。

从图 1 可以明显看出,土壤中铀的存在会显著影响鬼针草的生长速度及表型特征,铀浓度越高,鬼针草生长越慢。从图 2 可见,鬼针草的株高随铀浓度的升高而下降,50、100、200 mg/kg 3 个铀浓度组的株高分别为对照组的 63.8%、44.9%、18.3%。对照组鬼针草的平均株高为 24.4 cm,而在 200 mg/kg 铀浓度下,鬼针草的株高平均值仅为 4.475 cm,说明铀对植物的正常生长具有较大的影响;植物叶面积和单株叶片数也表现出与株高相同的规律,大、中、小 3 组叶片数据加权求均值后,3 个铀浓度组的叶面积分别为对照组的 48.6%、33.4%、14.9%;单株叶片数分别为对照组的 49.3%、31.3%、16.2%。数据分析表明,鬼针草株高、叶面积及单株叶片数与铀浓度之间存在极显著相关性($P < 0.01$)。

2.2 抗氧化酶逆境响应体系

植物在受到重金属离子胁迫时,会触发植物的自身保护机制,产生可以与游离态重金属离子(团)结合的可溶性蛋白,从而降低细胞内重离子浓度;另一方面植物通过产生对应的抗氧化酶、非酶类抗氧化化合物等其他抗氧化物质来清除由于过量金属元素所产生的活性氧(ROS),此外,MDA 含量可以反映植物膜脂过氧化程度,从而体现植物细胞的受损程度^[31]。

1) 铀胁迫下的抗氧化酶逆境响应参数

实验开始 50 d 后,未施加螯合剂的鬼针草叶片中可溶性蛋白和 MDA 含量及 CAT 和 POD 活性如图 3 所示。由图 3 可见,随着铀浓度的升高,可溶性蛋白含量先升后降,在铀浓度为 100 mg/kg 时最高,为对照组的 1.62 倍,50 mg/kg 和 200 mg/kg 时分别是对照组的 1.35 倍和 1.41 倍;MDA 含量在铀浓度较低时逐渐升高,100 mg/kg 时达最大值,是对照组的 1.90 倍,继续增加铀浓度,MDA 含量基本保持不变,50 mg/kg 和 200 mg/kg 时分别是对照组的 1.59 倍和 1.88 倍;POD 活性在铀浓度为 50 mg/kg 时最高(是对照组的 342.6%),随后开始下降,200 mg/kg 时是对照组的 2.34 倍;CAT 活性在铀浓度为 100 mg/kg 时达到最高(是对照组的

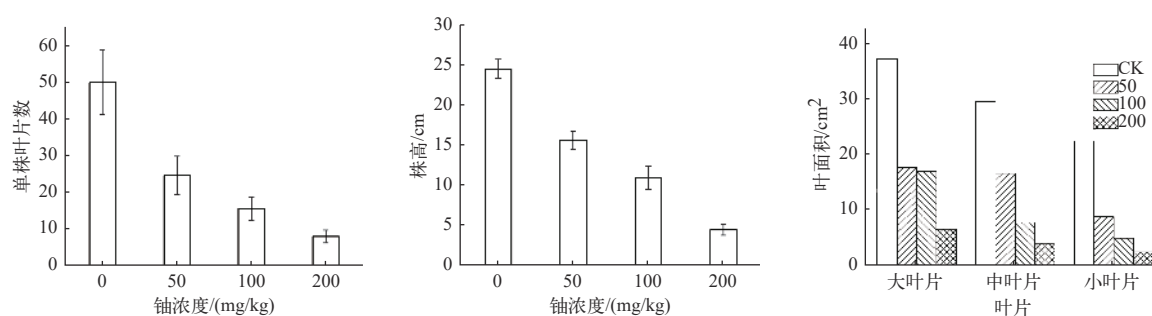


图2 植物表型参数随铀浓度的变化

Fig. 2 Changes in phenotypic parameters of plants with uranium concentrations

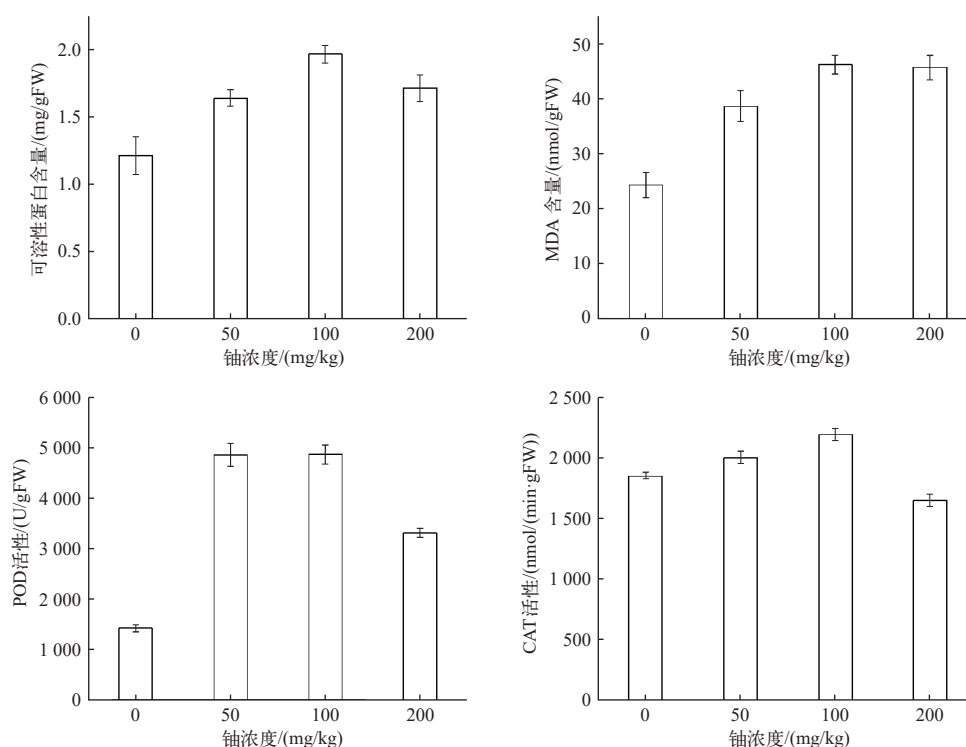


图3 铀胁迫对鬼针草抗氧化酶逆境响应参数的影响

Fig. 3 Effects of uranium stress on stress response parameters of *Bidens pilosa* L.

1.18 倍), 200 mg/kg 时最低(只有对照组的 88.9%)。

从上述生理参数变化可知, 铀对鬼针草的胁迫损伤程度随铀浓度的升高而增大, 在铀浓度为 100 mg/kg 时, 各项保护机制仍可正常运行; 当铀浓度增加至 200 mg/kg 时, 鬼针草的生长受到抑制, 细胞膜脂受损严重, 抗氧化酶活性受损, 各项保护机制均受到影响。同时各参数的大幅下降与异常变化也反映出过量铀对鬼针草植物体系的毒性影响, 可能源于铀离子(基团)与其他植物必要金属离子的竞争。高浓度的铀离子抢占了其他金属离子如 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 等的结合位点, Mg^{2+} 参与细胞

中蛋白质的合成^[32], 缺少该元素将影响植物的正常生长速度以及细胞内物质的合成, 从而无法抵抗铀的毒性。

2) 柠檬酸对铀胁迫下抗氧化酶逆境响应参数的影响

施加柠檬酸 7 d 后测得的鬼针草叶片可溶性蛋白和 MDA 含量及 POD 和 CAT 活性如图 4 所示。柠檬酸浓度为 20 mmol/kg 时植物出现死亡, 故图 4 中无对应数据。

从图 4 可看出, 在铀浓度小于 200 mg/kg 的实验组中施加柠檬酸会提高鬼针草可溶性蛋白的含量。铀浓度为 100 mg/kg 时, 柠檬酸的施加对可

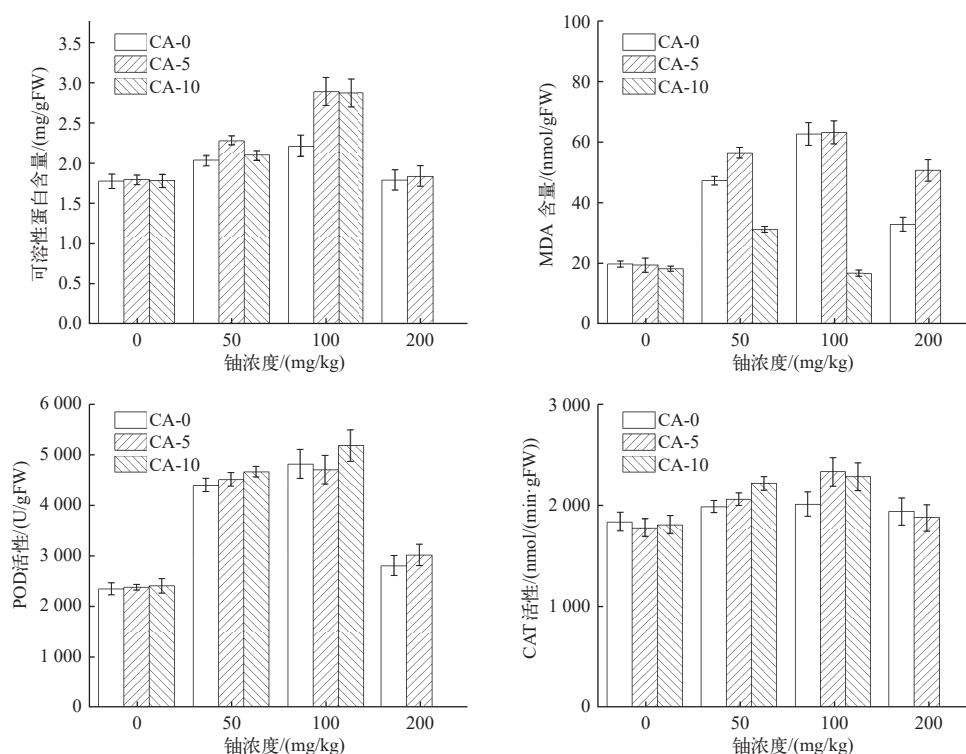


图4 柠檬酸对鬼针草抗氧化酶逆境响应参数的影响

Fig. 4 Effect of citric acid on stress response parameter of *Bidens pilosa* L.

溶性蛋白含量提升有较大影响。与同等铈浓度、不施加柠檬酸组相比,增加了29.8%~30.6%;MDA含量的变化与可溶性蛋白不同。相同铈浓度下,10 mmol/kg的柠檬酸会显著降低鬼针草的MDA含量。在铈浓度为100 mg/kg的条件下,加入10 mmol/kg柠檬酸后MDA含量仅为同等铈浓度、不施加柠檬酸组的26.6%。柠檬酸会提高鬼针草POD活性,施加10 mmol/kg柠檬酸时对鬼针草POD活性的提高效果最好,提升率在6%~7.5%。CAT活性整体变化趋势与POD相同,柠檬酸的使用会提高CAT活性,在铈浓度为100 mg/kg、施加5 mmol/kg柠檬酸的条件下出现最大值,与同等铈浓度、不施加柠檬酸组相比,增加了15.8%。当铈浓度增加至200 mg/kg时,施加柠檬酸后会使得MDA含量上升,CAT活性下降,可溶性蛋白与POD活性虽然出现上升,但幅度很小。结合无酸条件下的铈胁迫结果,其原因可能在于过高浓度铈带来的负面效果已经超过柠檬酸给植物提供的保护能力的上限,使得抗氧化酶体系受到影响。

3) 草酸对铈胁迫下鬼针草抗氧化酶逆境响应参数的影响

施加草酸7 d后鬼针草叶片可溶性蛋白和

MDA含量及POD和CAT活性如图5所示。施加20 mmol/kg草酸后,鬼针草隔天出现死亡的现象,故图中无对应数据。

从图5可看出,铈浓度小于200 mg/kg时,加入草酸后植物的抗氧化酶参数的变化趋势与柠檬酸类似,草酸会提升植物可溶性蛋白的整体含量,但提升率均在5%以下,提升效果低于柠檬酸;MDA含量的变化较为显著,草酸可以明显降低鬼针草MDA含量,缓解细胞膜脂的氧化程度,且草酸浓度越高,MDA含量越低。铈浓度为100 mg/kg时,10 mmol/kg的草酸可以使鬼针草MDA含量下降61.9%;施加草酸可以提高鬼针草POD与CAT的活性,但达到POD与CAT的活性峰值的草酸浓度有所差异。POD在铈浓度为100 mg/kg、草酸浓度为10 mmol/kg的条件下活性最高,与同等铈浓度、不施加草酸组相比,活性提升了9.0%;CAT在铈浓度为100 mg/kg、草酸浓度为5 mmol/kg的条件下活性最高,与同等铈浓度、不施加草酸组相比,活性提升了7.5%。当铈浓度增加至200 mg/kg时,施加草酸后MDA含量与POD活性上升,参考无酸条件与施加柠檬酸条件下的铈胁迫结果,可以认为产生异常的原因与施加柠檬酸条件的原因

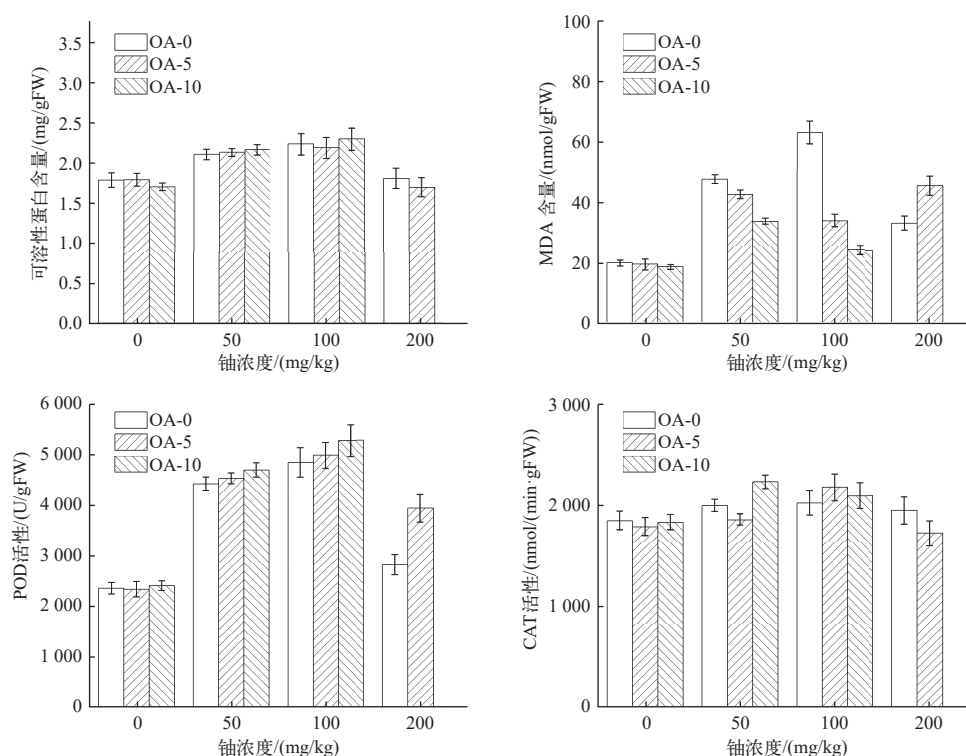


图5 草酸对鬼针草抗氧化酶逆境响应参数的影响

Fig. 5 Effects of oxalic acid on the stress response system of *Bidens pilosa* L.

类似。而从可溶性蛋白含量变化来看,草酸在高浓度铈条件下会抑制可溶性蛋白的合成,从而导致其含量下降。

2.3 叶绿素荧光参数

光合作用是植物赖以生存的化学反应之一,同时与植物其他的生理过程关系密切,叶绿素荧光参数是用于描述植物光合作用机理和光合生理状况的参数,是监测植物生理状态(植物健康、生物胁迫、非生物胁迫等)的关键指标^[33]。本文在植物生长一个月后开始进行叶绿素荧光参数测定,通过计算及数据整合得到了最大量子产额(F_v/F_m , F_v 为可变荧光)、实际量子产额(Φ_{PSII})以及非光化学猝灭系数(NPQ)。 F_v/F_m 反映的是植物的潜在最大光合能力,正常生理状态下,绝大多数 C_3 植物的 F_v/F_m 在0.8~0.84之间。 Φ_{PSII} 反映的是植物目前的实际光合效率,可以根据光合效率的变化趋势判断植物的光合系统是否正常;NPQ反映的是植物将多余的光能转化为热的能力,是植物光保护能力的体现。若NPQ较高,则说明植物在接受过量光能的条件下,仍可以通过自身的保护机制来维持自身系统稳定。

1) 铈胁迫对鬼针草叶绿素荧光参数的影响

铈浓度对鬼针草叶绿素荧光参数的影响如图6所示。数据分析显示,在铈胁迫条件下, F_v/F_m 值显著降低,与铈浓度呈极显著负相关($P<0.01$)。由图6可见,对照组鬼针草的 F_v/F_m 值为0.81,在0.80~0.84之间,说明鬼针草的生长情况正常。铈浓度升高后,鬼针草的 F_v/F_m 值出现了明显下降,在铈浓度为200 mg/kg时, F_v/F_m 值仅为0.761;实际量子产额 Φ_{PSII} 随着铈浓度的升高先升高后降低,与对照组相比,50、100、200 mg/kg铈浓度组 Φ_{PSII} 值分别升高了16.2%、23.4%、13.5%;NPQ变化趋势与最大量子产额相同,随铈浓度的升高而下降,与铈浓度呈极显著负相关($P<0.01$),与对照组相比,当铈浓度升高至50 mg/kg时,NPQ出现大幅下降,降低了39.7%,铈浓度继续增大时,NPQ的变化逐渐平稳,稳定在0.55左右。 F_v/F_m 与NPQ值的显著下降表明,铈胁迫对鬼针草的潜在最大光合效率以及光保护能力产生了负面影响,导致植物的光合能力下降。 Φ_{PSII} 的升高可能是鬼针草对铈胁迫的响应机制,鬼针草通过增加PSII的实际光合效率,暂时提高光合作用能力,以应对铈的胁迫。当铈浓度继续增加到200 mg/kg时, Φ_{PSII} 开始下降,这表明鬼针草的光合系统逐

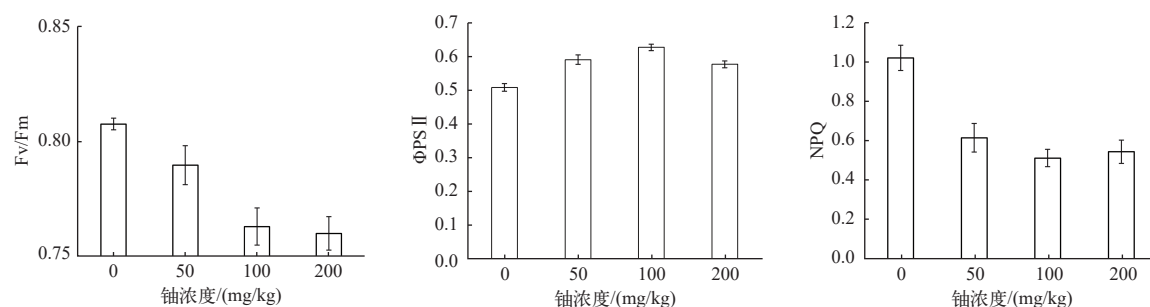


图6 铀浓度对鬼针草叶绿素荧光参数的影响

Fig. 6 Effects of uranium concentration on chlorophyll fluorescence parameters of *Bidens pilosa* L.

渐无法应对更高浓度的铀胁迫,导致光合作用效率降低。

2) 柠檬酸对铀胁迫下鬼针草叶绿素荧光参数的影响

施加柠檬酸后鬼针草叶绿素荧光参数的变化如图7所示。由图7可见,施加低浓度柠檬酸可以有效提升Fv/Fm值。铀浓度为50 mg/kg和100 mg/kg时,5 mmol/kg的柠檬酸可以将低于正常值的Fv/Fm提升至正常范围内,铀浓度提升至200 mg/kg时,柠檬酸仍对Fv/Fm有一定的促进作用。但当柠檬酸浓度提升至10 mmol/kg时,Fv/Fm出现下降,最大降幅为4.2%,说明此时中高浓度的柠檬酸导致鬼针草的光合体系出现异常;同样的现象也出现在了ΦPS II中,5 mmol/kg的柠檬酸会提升ΦPS II值,最高可提升3.6%,10 mmol/kg的柠檬酸会降低ΦPS II值,最大降幅为6.4%;NPQ的变化则与Fv/Fm和ΦPS II不同,任意浓度的柠檬酸均会导致NPQ的下降,在铀浓度50 mg/kg、柠檬酸浓度10 mmol/kg时最大降幅能够达到51.2%,可以推断柠檬酸对光保护系统的影响较大。

3) 草酸对铀胁迫下鬼针草叶绿素荧光参数的影响

施加草酸后的鬼针草叶绿素荧光参数的变化

如图8所示。施加草酸对鬼针草叶绿素荧光参数的影响与柠檬酸效果类似,5 mmol/kg浓度的草酸促进鬼针草的最大与实际量子产额,浓度提升到10 mmol/kg会降低量子产额。从Fv/Fm的变化程度来看,施加草酸对鬼针草Fv/Fm的提升效果不如柠檬酸明显但仍有提升,草酸浓度为5 mmol/kg时,Fv/Fm提升在0.05%~1.5%之间;从ΦPS II的变化程度来看,草酸对ΦPS II的提升效果优于柠檬酸,在草酸浓度为5 mmol/kg,ΦPS II的提升在4.5%~7.2%之间。对于NPQ,对照组在施加草酸后出现了明显下降,下降幅度比柠檬酸大,并且随着铀浓度的提升,施加草酸后鬼针草的NPQ稳定在0.3~0.35之间,该范围明显低于施加柠檬酸后的NPQ稳定范围,可以推测相同浓度下的草酸比柠檬酸对鬼针草光合系统的毒害更强。

2.4 螯合剂对鬼针草铀富集能力的影响

施加螯合剂后鬼针草的转移系数如图9所示,图9中横坐标编号方法为:铀浓度-酸-酸浓度,50、100、200为只含铀,不添加OA或CA。从图9可看出,螯合剂对鬼针草的铀富集能力有较大的提升,不同种类、不同浓度的螯合剂对鬼针草的影响不同。铀浓度为50 mg/kg时,10 mmol/kg柠檬酸和20 mmol/kg草酸对鬼针草的铀富集能力提升最

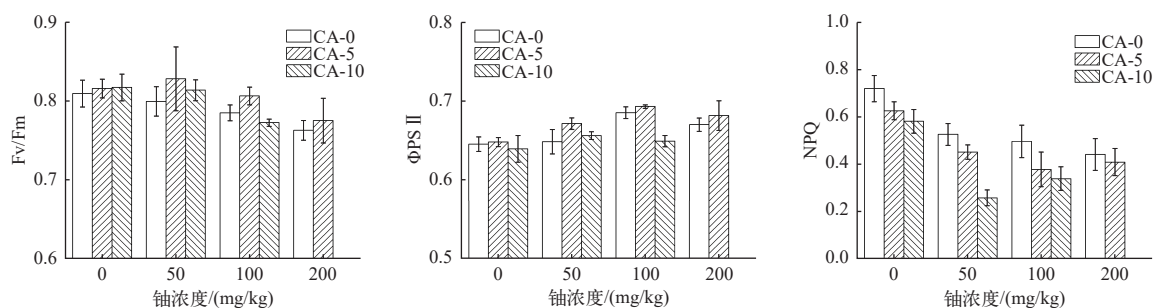


图7 柠檬酸对鬼针草叶绿素荧光参数的影响

Fig. 7 Effect of citric acid on chlorophyll fluorescence parameters of *Bidens pilosa* L.

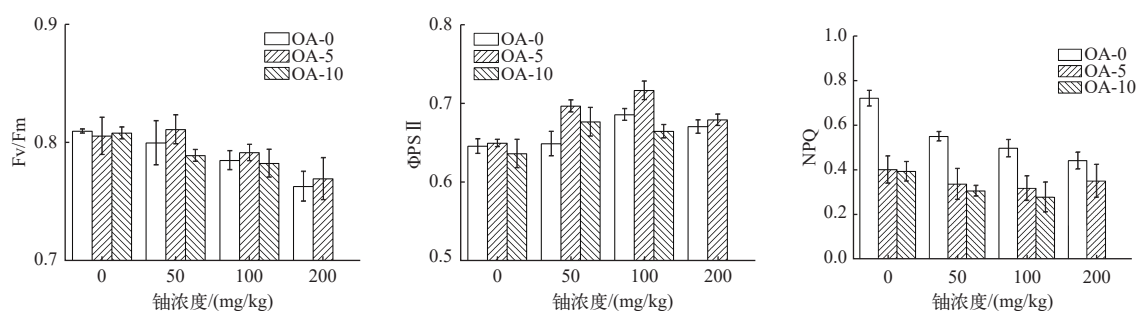


图8 草酸对鬼针草叶绿素荧光参数的影响

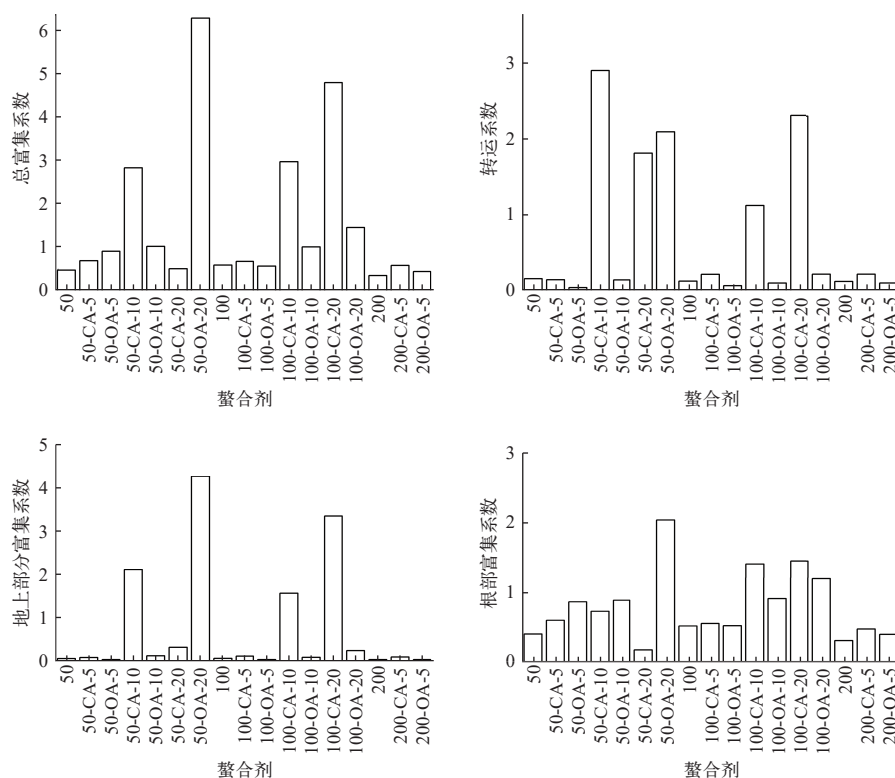
Fig. 8 Effect of oxalic acid on chlorophyll fluorescence parameters of *Bidens pilosa* L.

图9 施加螯合剂后鬼针草的转移参数

Fig. 9 Transfer coefficient of *Bidens pilosa* L. after application of chelating agent

大,总富集系数较对照组提高了6.1、13.5倍,最高可达6.29,在这两个柠檬酸浓度下,铈的主要富集部位由根部转移至地上部分,地上部分的富集系数为2.11、4.26,转运系数最高达到2.09,超过了定义超富集植物的参数下限^[34];铈浓度为100 mg/kg时,柠檬酸的效果优于草酸的,10 mmol/kg和20 mmol/kg的柠檬酸对鬼针草的铈富集能力提升最大,总富集系数较对照组提高了5.1、8.3倍,地上部分富集系数为1.56、3.36;当铈浓度进一步提升至200 mg/kg时,加柠檬酸和草酸后,鬼针草的总富集系数从0.34分别提升至0.57和0.43,效果不明显,结合前文分析,原因可能是螯合剂的施加

不足以帮助鬼针草抵抗高浓度铈对其正常生命活动的破坏。

3 结论

1) 土壤中铈的存在会显著影响鬼针草的生长速度及表型特征,铈浓度越高,鬼针草生长越慢。在铈胁迫下,鬼针草细胞膜出现受损,其膜脂过氧化程度上升,鬼针草会通过提高自身抗氧化体系蛋白的含量以及提升实际光合效率完成对铈元素的胁迫响应。

2) 在铈胁迫环境下,施加5 mmol/kg与10 mmol/kg浓度的柠檬酸和草酸会促进植物体内

抗氧化系统的活性,降低细胞膜脂的氧化程度;同时也会提高鬼针草最大量子产额与实际量子产额,但会破坏植物的光保护系统;高浓度酸会直接导致植物细胞膜严重受损,无法维持细胞稳态,植物生命强度迅速下降,甚至出现死亡的现象。在相同酸浓度条件下,草酸对鬼针草光保护系统的破坏较柠檬酸更强。

3) 柠檬酸与草酸的使用会使鬼针草的铀提取能力大幅提升,总体效果上柠檬酸优于草酸。当土壤铀浓度为 50 mg/kg 时,鬼针草在 20 mmol/kg 的草酸作用下,最大总富集系数可达 6.29,地上部分富集系数达到 4.26,转运系数达到 2.09,超过了定义超富集植物的各项参数下限,可以定义为超富集植物,但在该条件下鬼针草存活时间不超过 24 h。如果在后续植物现场修复过程需要鬼针草正常存活的同时尽可能提高鬼针草对铀的富集能力,则推荐使用 10 mmol/kg 的柠檬酸辅助鬼针草开展植物修复。

参考文献:

- [1] 李元岗,孙娟,何占飞,等.露天铀矿采冶环境污染和生态影响分析[J].西部资源,2018(2): 104-105, 109.
LI Yuangang, SUN Juan, HE Zhanfei, et al. Analysis on environment pollution and ecological impact in open-pit mining and extractive metallurgy for uranium mine[J]. Western Resources, 2018(2): 104-105, 109(in Chinese).
- [2] DEROSA C. Agency for toxic substances and disease registry's toxicological profiles: Contribution to public health[J]. Toxicology and Industrial Health, 1994, 10(3): 117.
- [3] SHMAEFSKY B R. Principles of phytoremediation [M]/SHMAEFSKY B R. Concepts and strategies in plant sciences. Cham: Springer International Publishing, 2020: 1-26.
- [4] Introduction to phytoremediation[R]. Washington: National Risk Management Research Laboratory Office of Research and Development, 2000.
- [5] 张学礼,王尔奇.环境中铀污染的植物修复[J].铀矿冶, 2008, 27(1): 44-49.
ZHANG Xueli, WANG Erqi. Review on phytoremediation of uranium-contaminated environment[J]. Uranium Mining and Metallurgy, 2008, 27(1): 44-49(in Chinese).
- [6] 唐永金,罗学刚,曾峰,等.不同植物对高浓度铀胁迫的响应与铀富集植物筛选[J].核农学报,2013, 27(12): 1920-1926.
TANG Yongjin, LUO Xuegang, ZENG Feng, et al. Response of plants to high concentrations of uranium stress and the screening of remediation plants[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2013, 27(12): 1920-1926(in Chinese).
- [7] SHAHANDEH H, HOSSNER L R. Role of soil properties in phytoaccumulation of uranium[J]. Water, Air, and Soil Pollution, 2002, 141(1): 165-180.
- [8] STOJANOVIĆ M, PEZO L, LAČNJEVAC Č, et al. Biometric approach in selecting plants for phytoaccumulation of uranium[J]. International Journal of Phytoremediation, 2016, 18(5): 527-533.
- [9] HU N, LANG T, DING D, et al. Enhancement of repeated applications of chelates on phytoremediation of uranium contaminated soil by *Macleaya cordata*[J]. Journal of Environmental Radioactivity, 2019, 199/200: 58-65.
- [10] CHANG P, KIM K W, YOSHIDA S, et al. Uranium accumulation of crop plants enhanced by citric acid[J]. Environmental Geochemistry and Health, 2005, 27(5): 529-538.
- [11] CHEN L, LONG C, WANG D, et al. Phytoremediation of cadmium (Cd) and uranium (U) contaminated soils by *Brassica juncea* L. enhanced with exogenous application of plant growth regulators[J]. Chemosphere, 2020, 242: 125112.
- [12] CHEN B D, ZHU Y G, SMITH F A. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on uranium and arsenic accumulation by Chinese brake fern (*Pteris vittata* L.) from a uranium mining-impacted soil[J]. Chemosphere, 2006, 62(9): 1464-1473.
- [13] 郭晨冉,陈井影,姚逸晖,等.黑麦草-根内球囊菌联合修复铀污染土壤[J].有色金属(冶炼部分),2021(3): 65-70.
GUO Chenran, CHEN Jingying, YAO Yihui, et al. Study on *lolium perenne*-glomus intraradice combined remediation of uranium-contaminated soils[J]. Nonferrous Metals (Extractive Metallurgy), 2021(3): 65-70(in Chinese).
- [14] 陈威,胡南,陈可,等.博落回和竹柳间作修复铀污染土壤的研究[J].原子能科学技术,2018, 52(10): 1748-1755.
CHEN Wei, HU Nan, CHEN Ke, et al. Phytoremediation of uranium contaminated soil by *macleaya cordata* and *Salicaceae* in intercropping pattern[J]. Atomic Energy Science and Technology, 2018, 52(10): 1748-1755(in Chinese).
- [15] ZHANG Y, DING D, LI G, et al. Enhanced effects and mechanisms of *Syngonium podophyllum*-*peperomia tet-*

- raphylla co-planting on phytoremediation of low concentration uranium-bearing wastewater[J]. *Chemosphere*, 2021, 279: 130810.
- [16] YAN A, WANG Y, TAN S N, et al. Phytoremediation: A promising approach for revegetation of heavy metal-polluted land[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 359.
- [17] 张雅睿. 螯合剂和有机酸对植物修复镉砷污染农田及土壤微生物群落的影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2022.
- [18] 中国植物志编委会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1998.
- [19] IMRAN M, HU S, LUO X, et al. Phytoremediation through *Bidens pilosa* L., a nonhazardous approach for uranium remediation of contaminated water[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2019, 21(8): 752-759.
- [20] 国家食品药品监督管理总局. GB 5009.268—2016 食品中多元素的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [21] 生态环境部. HJ 962—2018 土壤 pH 值测定 电位法[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2018.
- [22] 国家林业局. LY/T 1225—1999 森林土壤颗粒组成(机械组成)的测定[S]. 北京: 中国林业出版社, 1999.
- [23] 农业部. NY/T 85—1988 土壤有机质测定法[S]. 北京: 中国农业出版社, 1988.
- [24] 农业部. NY/T 53—1987 土壤全氮测定法(半微量开氏法)[S]. 北京: 中国农业出版社, 1987.
- [25] 国家林业局. LY/T 1228—2015 森林土壤氮的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [26] 国家林业局. LY/T 1232—2015 森林土壤磷的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [27] 国家林业局. LY/T 1234—2015 森林土壤钾的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [28] 国家林业局. LY/T 1251—1999 森林土壤水溶性盐分分析[S]. 北京: 中国标准出版社, 1999.
- [29] 环境保护局. GB/T 17141—1997 土壤质量 铅、镉的测定 石墨炉原子吸收分光光度法[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 1998.
- [30] 环境保护部. HJ 680—2013 土壤和沉积物 汞、砷、硒、铋、锑的测定 微波消解/原子荧光法[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2014.
- [31] 荣丽杉. 铀污染土壤的植物-微生物修复及其机理研究[D]. 衡阳: 南华大学, 2015.
- [32] 李仕友. 植物富集铀镉特征及其响应机制试验研究[D]. 衡阳: 南华大学, 2019.
- [33] 韩志国, 顾群, 郭峰, 等. 远程无线监测植物叶绿素荧光的系统: 中国, CN201110254698.6[P]. 2011-12-21.
- [34] 王丹, 陈晓明, 唐运来, 等. 放射性核素污染土壤的植物提取修复技术研究关键问题探讨[J]. *辐射防护*, 2016, 36(2): 94-103.
- WANG Dan, CHEN Xiaoming, TANG Yunlai, et al. Discussion on key issues to research the phytoextraction technology of contamination of radionuclides in soil[J]. *Radiation Protection*, 2016, 36(2): 94-103(in Chinese).