

ẢNH HƯỞNG CỦA HÀM LƯỢNG NITƠ VÀ PHOTPHO TRONG ĐẤT ĐẾN KHẢ NĂNG CỘNG SINH CỦA NẤM ARBUSCULAR MYCORRHIZAS TRÊN CÂY NGÔ VÀ HIỆU QUẢ XỬ LÝ ĐẤT Ô NHIỄM CHÌ

BÙI VĂN CƯỜNG, TĂNG THỊ CHÍNH

1. MỞ ĐẦU

Dùng thực vật để cải tạo những vùng đất ô nhiễm kim loại nặng (phytoremediation) là biện pháp đang nhận được sự quan tâm đặc biệt bởi những ưu việt của nó so với các biện pháp khác: thân thiện với môi trường, chi phí rẻ, dễ áp dụng và có thể áp dụng cho một vùng ô nhiễm rộng lớn... Tác nhân chính trong phương pháp này là các loài thực vật có khả năng hấp thu một lượng lớn kim loại từ đất và tích tụ trong sinh khối của chúng dẫn đến hàm lượng kim loại còn lại trong đất bị giảm đi [4]. Song những nghiên cứu gần đây lại đánh giá cao vai trò của hệ vi sinh vật sống cộng sinh với rễ thực vật đặc biệt là nấm arbuscular mycorrhiza (AM), thậm chí tác giả Jamal (2002) còn đưa ra khái niệm “Mycorrhizo-Remediation” để cho thấy vai trò không nhỏ của nấm AM trong việc cải tạo đất ô nhiễm [3]. Nấm Arbuscular Mycorrhizas (còn được gọi là nấm nội cộng sinh Endomycorrhiza) là một trong ba dạng chính của nấm cộng sinh Mycorrhizas được miêu tả lần đầu tiên vào năm 1885 bởi nhà thực vật học người Đức A. B. Frank. Vai trò của chúng trong nông nghiệp và trồng rừng đã được đánh giá và công nhận qua các nghiên cứu rất kỹ lưỡng trong vòng 40 năm trở lại đây [7]. Song những vai trò của nấm AM trong lĩnh vực bảo vệ môi trường vẫn chưa được quan tâm nhiều. Trong các nghiên cứu gần đây các nhà khoa học đã chứng minh được vai trò thiết yếu của nấm cộng sinh arbuscular mycorrhizas không những trong việc giúp cây chống chịu tốt trong điều kiện ô nhiễm kim loại, mà còn nâng cao hiệu suất hấp thu kim loại nặng của cây xử lý [2]. Có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến quá trình phát triển của thực vật cũng như khả năng cộng sinh của nấm AM vào bộ rễ của cây chủ như nhiệt độ, ánh sáng, độ ẩm của đất, thành phần các chất dinh dưỡng có trong môi trường đất. Dưới đây là các kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng nitơ và photpho đến sự cộng sinh của nấm AM vào rễ cây ngô và khả năng xử lý đất ô nhiễm chì của chúng.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Chúng nấm cộng sinh arbuscular mycorrhizas thuộc chi *Glomus* do phòng Vi sinh vật môi trường, Viện Công nghệ môi trường phân lập và cung cấp. Giống ngô được sử dụng trong nghiên cứu là giống ngô lai LVN – 4 của Viện nghiên cứu ngô (Đan Phượng – Hà Nội). Kim loại chì (Pb) được bổ sung dưới dạng muối $PbCl_2$ do Trung Quốc sản xuất.

2.2. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí thành dải tăng dần hàm lượng dinh dưỡng P và N trong đất (bổ sung phân hữu cơ MIX 209 của Công ty cổ phần Khánh Sinh).

TN1: Trộn 50% đất với 50% cát (tương ứng với P: 252,3 ppm và N: 44,1 ppm);

TN2: Trộn 80% đất với 20% cát (tương ứng với P: 363,1 ppm và N: 70,6 ppm);

TN3: Trồng trên đất thường (tương ứng với P: 603,3 ppm và N: 85,2 ppm). Các cây thí nghiệm TN3 trong quá trình nuôi trồng bị chuột phá hoại, nên các kết quả của TN3 chúng tôi không đề cập đến do không phản ánh được bản chất của kết quả;

TN4: Bổ sung vào đất 0,3% phân hữu cơ (tương ứng với P: 718,6 ppm và N: 86,8 ppm);

TN5: Bổ sung vào đất 0,6% phân hữu cơ (tương ứng với P: 752,5 ppm và N: 87,6 ppm);

TN6: Bổ sung vào đất 0,9% phân hữu cơ (tương ứng với P: 786,5 ppm và N: 88,2 ppm);

TN7: Bổ sung vào đất 1,2% phân hữu cơ (tương ứng với P: 900 ppm và N: 93,8 ppm);

TN8: Bổ sung vào đất 1,5% phân hữu cơ (tương ứng với P: 952,3 ppm và N: 105 ppm).

Từ TN1 đến TN8 được bổ sung thêm 2000 mg Pb (Pb được bổ sung dưới dạng muối $PbCl_2$). Mỗi công thức được lặp lại 3 lần. Bào tử *Glomus* được bơm trực tiếp vào bộ rễ cây ngô sau bốn ngày nảy mầm, với số lượng bào tử từ 30 - 40 bào tử cho một cây.

2.3. Phương pháp phân tích

Phương pháp thu thập bào tử AM từ đất vùng rễ của cây chủ: phương pháp chính được chúng tôi sử dụng trong nghiên cứu là phương pháp rây ẩm (wet sieving): 50 - 100g đất được hòa với nước trong một chiếc ca dung tích 0,5 - 1 lít khuấy đều lên, những cục đất lớn được bóp nhỏ bằng tay. Sau khi khuấy đều ta để lắng khoảng 20 giây và đổ dịch nổi vào những chiếc rây đã được chuẩn bị trước với các kích thước lỗ rây lần lượt là: 500 μm , 200 μm , 50 μm . Quá trình này được lặp lại 3 lần. Sau đó những thành phần còn dính lại ở rây được chuyển lên đĩa petri. Sử dụng kính hiển vi xuôi chiều (disecting microscope) để quan sát và lấy từng bào tử ra từ đĩa petri. Bào tử được bảo quản trong nước cất ở 4°C [4].

Phương pháp nhuộm màu để quan sát cấu trúc điển hình của AM trong rễ: Sử dụng phương pháp nhuộm màu với dung dịch thuốc nhuộm fucsin axit 0,01% trong lactoglyxerol cho phép ta quan sát được những cấu trúc đặc trưng của AM bên trong tổ chức rễ. Sau khi đã loại bỏ đất cát, rễ được xử lý với dung dịch KOH 10% trong khoảng 1 - 2 giờ ở 90°C. Sau quá trình tẩy, rễ được ngâm trong dung dịch HCl 2% trong 10 phút, mục đích là để trung hòa bớt kiềm trong quá trình tẩy, sau đó được rửa lại bằng nước cất. Rễ được nhuộm màu bằng dung dịch fucsin axit 0,01% trong nước nóng với thời gian từ 10 - 15 phút. Để làm giảm bớt màu nhuộm giúp cho việc quan sát dễ dàng hơn, rễ được rửa với dung dịch axit lactic 2 - 3 lần. Lúc này rễ đã sẵn sàng cho việc quan sát [8].

Phương pháp xác định mật độ của AM trong rễ: Sử dụng phương pháp line insect: Mẫu rễ được lấy ngẫu nhiên từ bộ rễ của cây, loại bỏ đất cát, sau đó được cắt thành những mẫu nhỏ khoảng 1 - 1,5 cm, với số lượng là 50 mẫu. Những mẫu rễ này được nhuộm màu, sau đó được quan sát dưới kính hiển vi. Mật độ nấm AM trong bộ rễ của cây được tính như sau:

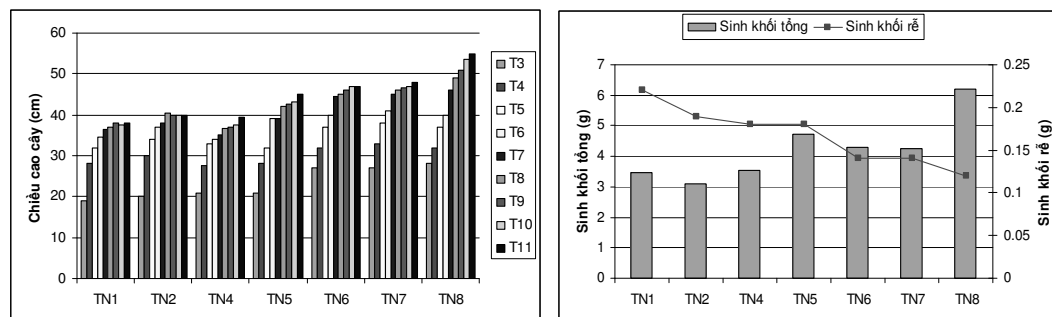
$$\text{Mật độ (\%)} = \frac{\sum \text{mẫu xuất hiện AM}}{\sum \text{mẫu được quan sát}} 100 [2].$$

Xác định hàm lượng Nitơ tổng số trong đất bằng phương pháp Kendal [1].

Xác định hàm lượng Photpho tổng số trong các mẫu đất bằng phương pháp axit ascorbic - antimoantartrat. Nguyên lý là sử dụng axit pecloric hòa tan các hợp chất photpho trong đất. Xác định hàm lượng photpho trong dung dịch bằng phương pháp trắc quang “màu xanh molyptden” [1].

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

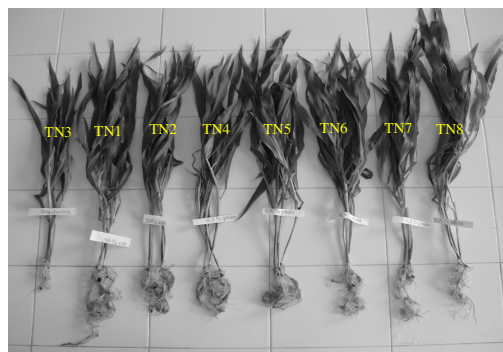
3.1. Khả năng sinh trưởng của các cây thí nghiệm ở những công thức khác nhau



Hình 1. A: Sự biến động chiều cao; B: Sinh khối khô của ngô sau 11 tuần thí nghiệm

Qua biểu đồ (hình 1A) chúng ta có thể thấy sự phát triển về chiều cao của các cây thí nghiệm trong đất giàu dinh dưỡng khá nhanh và tốt (55 cm sau 11 tuần), trong khi các cây ở đất nghèo phát triển kém hơn hẳn (39 cm sau 11 tuần).

Lượng sinh khối thu được của các cây thí nghiệm cho ta thấy một sự khác biệt khá rõ ràng giữa các công thức khác nhau. Sinh khối tổng của các cây thí nghiệm có xu hướng tăng tỉ lệ thuận theo hàm lượng phân bón bổ sung vào đất trồng, nhưng trái lại sinh khối rễ lại phát triển theo tỉ lệ nghịch với hàm lượng phân bón bổ sung vào đất (hình 1B và 2).

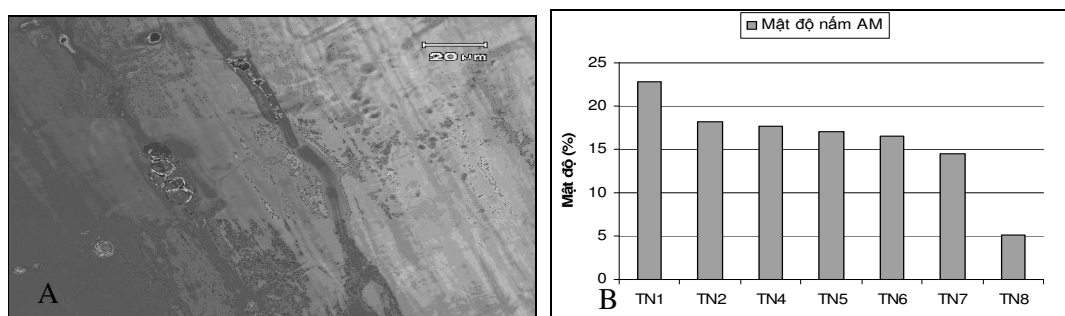


Qua những nghiên cứu của mình, tác giả Andre Fortin [2] cho rằng sự phát triển mạnh mẽ bộ rễ ở vùng đất nghèo là do sự tương tác qua lại giữa cây chủ và nấm cộng sinh thông qua các tín hiệu thông tin ở cấp độ phân tử (dạng phytohormon), qua đó bộ rễ của cây sẽ được phát triển một cách tối đa làm gia tăng khả năng liên kết giữa nấm và bộ rễ của cây giúp cho hệ sợi nấm có thể phát triển và vươn tới những điểm cách rất xa bộ rễ để hút chất dinh dưỡng.

3.2. Hình thái và mật độ nấm AM trong bộ rễ ngô

Hình 3A là tiêu bản cho thấy hệ sợi nấm AM nằm trong cấu trúc của rễ, chúng nằm xen kẽ và song song với chiều sắp xếp của các tế bào, có lúc tạo thành các dạng bong (vesicular) đặc trưng của nấm arbuscular mycorrhizas.

Mật độ nấm AM đạt cao nhất ở những cây thuộc TN1 (22,8%) và giảm dần đến giá trị thấp nhất ở TN8 (5,13%). Trong thí nghiệm này, đất giàu dinh dưỡng lại là yếu tố ngăn cản sự cộng sinh của nấm AM vào cây ngô. Ở những công thức đất càng nghèo dinh dưỡng (TN1, TN2) khả năng cộng sinh của nấm AM càng cao.

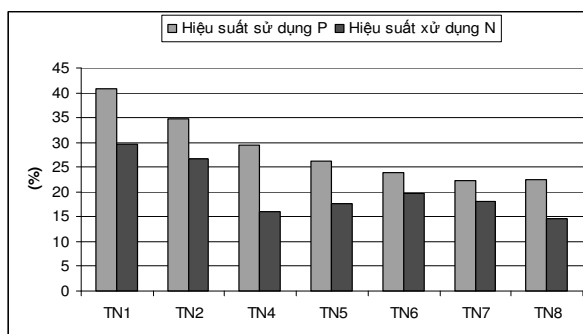


Hình 3. A: Hệ sợi nấm AM trong rễ ngô; B: Mật độ nấm AM trong rễ ngô ở các thí nghiệm khác nhau

3.3. Hiệu suất sử dụng P và N

Bảng1. Hiệu suất sử dụng P và N của các cây thí nghiệm

Kí hiệu mẫu	TN1	TN2	TN4	TN5	TN6	TN7	TN8
Hiệu suất sử dụng P (%)	40,8	34,7	29,4	26,3	23,8	22,3	22,6
Hiệu suất sử dụng N (%)	30	22,5	19	17,5	17	16,4	16



Hình 4. Hiệu suất sử dụng P và N của cây ngô

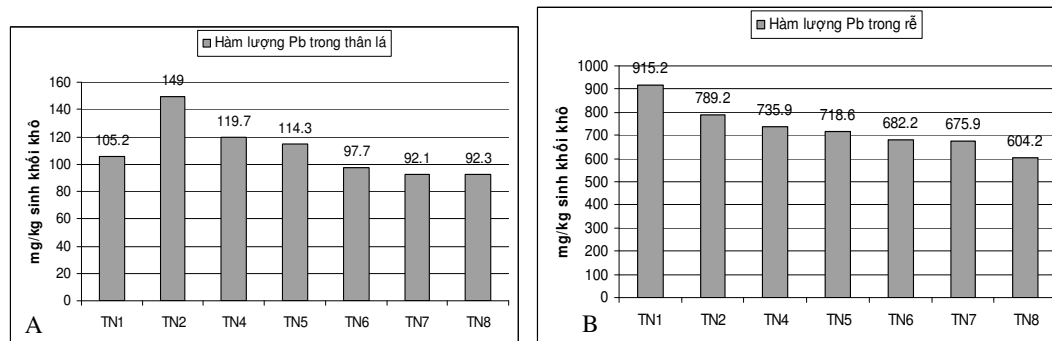
Hiệu suất sử dụng được tính theo hàm lượng P và N trong đất giảm đi trong quá trình nuôi trồng. Nhìn chung hiệu suất hấp thụ P của cây cao hơn so với hiệu suất sử dụng N và giảm dần từ công thức TN1 đến TN8 (bảng 1, hình 4).

Sự phát triển mạnh mẽ của bộ rễ với mật độ nấm AM cao giúp cho việc hấp thụ dinh dưỡng hiệu quả hơn khi cây phải sống trong điều kiện nghèo dinh dưỡng.

3.4. Hàm lượng Pb tích lũy trong sinh khối

Bảng 2. Hàm lượng Pb tích lũy trong sinh khối

Kí hiệu mẫu	TN1	TN2	TN4	TN5	TN6	TN7	TN8
Thân lá (mg/kg)	105,2	149	119,7	114,3	97,7	92,1	92,3
Rễ (mg/kg)	915,2	789,2	735,9	718,6	682,2	675,9	604,2



Hình 5. A: Hàm lượng Pb tích lũy trong thân lá; B: Hàm lượng Pb tích lũy trong rễ

Hàm lượng Pb tích lũy trong rễ gấp hơn từ 6 đến 8 lần so với thân lá, đây là kết quả thường xảy ra trong những nghiên cứu trước đó, vì rễ là bộ phận trực tiếp hấp thu các chất ô nhiễm trong đất nên thường có một lượng lớn các chất ô nhiễm tích tụ lại trong sinh khối của rễ (bảng 2).

Hàm lượng Pb tích tụ trong rễ giảm dần từ TN1 (915,2 ppm) đến TN8 (604,2 ppm) và lượng Pb trong rễ của TN1 gấp 1,5 lần so với TN8 (bảng 2, hình 5).

Một trong những nguyên nhân khác dẫn đến sự gia tăng các chất ô nhiễm tích tụ trong bộ rễ đó là nấm AM, một lượng Pb không nhỏ tích tụ trong hệ sợi nấm AM khi chúng cộng sinh trong bộ rễ cây chủ. Điều này được chứng minh khi ta so sánh hai biểu đồ hình 3B và 5B, qua hai biểu đồ này cho ta thấy mật độ nấm và hàm lượng Pb tích tụ trong sinh khối rễ là tỉ lệ thuận với nhau, mật độ nấm càng lớn thì khả năng tích lũy Pb càng cao và ngược lại.

Như vậy, việc tăng cường khả năng cộng sinh của nấm AM không những giúp cho cây có thể chống chịu tốt trong điều kiện ô nhiễm kim loại, mà còn làm tăng khả năng hấp thu chất ô nhiễm vào sinh khối cây, dẫn đến hiệu quả xử lý cao hơn.

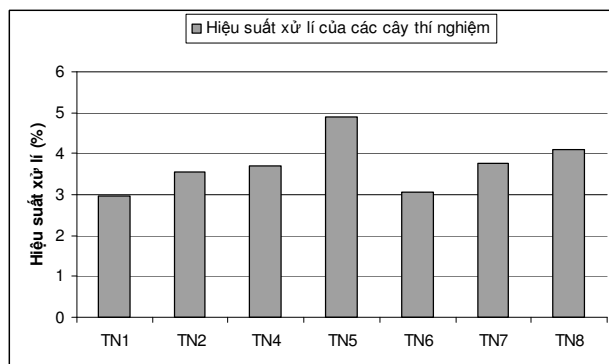
3.5. Hiệu suất xử lý chì trong đất ô nhiễm của ngô ở các thí nghiệm khác nhau

Nhìn trên biểu đồ hình 6 ta có thể thấy, hiệu suất xử lý của TN1 và TN2 chỉ đạt giá trị trung bình (3% - 3,54%) mặc dù khả năng tích tụ Pb của chúng trong sinh khối là cao nhất. Trái lại, các cây thuộc TN7 và TN8 khả năng tích tụ Pb kém, nhưng hiệu suất xử lý có phần tốt hơn TN1 và TN2 (TN7: 3,78%; TN8: 4,15%).

Hiệu suất xử lý đạt tối ưu ở các cây thuộc TN5 (4,92%). Ở hàm lượng phân bón bổ sung là 0,6% (tương đương với hàm lượng P: 752,5 ppm và N: 87,6 ppm) chúng vừa tạo được cho cây có sự sinh trưởng tốt về sinh khối mà lại không ngăn cản sự cộng sinh của nấm AM.

Do vậy khi tiến hành sử dụng thực vật để cải tạo đất ô nhiễm, chúng ta không nên quá chú trọng vào việc phát triển sinh khối của cây bằng việc bón nhiều phân, vì điều này gián tiếp làm

giảm khả năng hấp thu kim loại của cây xử lí do sự ngăn cản khả năng cộng sinh của nấm AM vào cây chủ. Số liệu thu được trong nghiên cứu này có thể được sử dụng như bước khởi đầu cho những nghiên cứu tiếp sau đó trên những quy mô khác nhau và với những đối tượng thực vật khác nhau.



Hình 6. Hiệu suất xử lí chì của các cây thí nghiệm

4. KẾT LUẬN

Đất nghèo dinh dưỡng (P: 252,3 ppm, N: 44.1 ppm) kích thích sự cộng sinh của nấm AM vào cây ngô (TN1: 22,8%), ngược lại đất giàu dinh dưỡng (P: 952,3 ppm, N: 105 ppm) lại kìm hãm sự cộng sinh này (TN8: 5,13%). Sự cộng sinh của nấm AM với mật độ lớn giúp cho cây sinh trưởng và phát triển tốt và hấp thụ lượng lớn kim loại vào sinh khối cây đặc biệt ở bộ rễ (lượng Pb tích tụ trong rễ TN1 gấp 1,5 lần so với TN8) và hàm lượng Pb tích lũy ở rễ cao hơn 6 đến 8 lần so với thân lá ở tất cả các công thức thí nghiệm. Ở hàm lượng P là 752,5 ppm và N: 87,6 ppm trong đất cho cây đạt hiệu suất xử lí chì trong đất cao nhất.

Từ các kết quả nghiên cứu trên cho thấy muốn thu nhận sinh khối nấm AM trong đất thì nên trồng ngô trên đất nghèo dinh dưỡng nitơ và photpho, nhưng để xử lý đất ô nhiễm chì thì không nên bón quá nhiều phân nitơ và photpho.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Viện thổ nhưỡng nông hoá - Sổ tay phân tích đất, nước, phân bón cây trồng I, Nhà xuất bản Nông nghiệp, 1998, tr. 100-105.
2. Andre Fortin, Guillaume Becard, Stephane Deleck, Yolande Dalpe, Marcst-Arnamd, Andrew P Coughlan, and Yves Piche - Mycorrhiza on root-organ cultures, NRC Reseach Press. Can. J. Bot. **80** (2002) 2-15
3. Leyval, C., Singh, B. R., Janer E. J. - Occurrence and infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi in some Norwegian soils influenced by heavy metals and soil properties, Water, Air Soil Pollut. **83** (1995) 203-216.
4. Mahendra Rai, Ajit Varma - Arbuscular Mycorrhiza-like biotechnological potential of Piriformospora indica which promotes the growth of Adhatoda vasica Nees, Plant Biotechnology **8** (1) (2005) 23-28.

5. Neil Willey - Phytoremediation: Methods and Reviews, Humana Press Inc. Vol. 23, 2007, 15-17.
6. Pennanen T., Frosetgerd A., Fritze H., Barth E. - Phospholipid fatty acid composition and heavy metal tolerance of soil microbial communities along two heavy metal polluted gradients in coniferous forests, *Appl Environ Microbiol*, **62** (1996) 420-428.
7. Pawlowska T. E., Blaszkowski J., Ruhling A. - The mycorrhizal status of plants colonizing a calamine spoil mound in southern Poland, *Mycorrhiza* **6** (1996) 499-505.
8. Shetty K. G., Banks M. K., Hetrick B. A., Schwab A. P. - Effects of mycorrhizae and fertilizer amendments on zinc tolerance of plants, *Environ. Pollut.* **88** (1995) 307-314.

SUMMARY

THE INFLUENCE OF PHOSPHOROUS AND NITROGEN CONTENT IN SOIL ON THE SYMBIOSIS ABILITY OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAS FUNGI IN THE HOST PLANT ROOT, AND THE EFFECT OF LEAD REMOVAL FROM SOIL BY MAIZE

The study was conducted to investigate how the nutrient factor in soil (Phosphorous and Nitrogen) influence on the symbiosis ability of arbuscular mycorrhizas fungi to the host plant, and the effect of lead (Pb) removal from soil by maize. The results showed that, AM fungi were inhibited to penetrate into maize root when they were cultured in rich nutrient soil. In the soil with low concentration of nitrogen and phosphorus nutrient (formula TN1), the density of AM fungi was three times higher than this in high nutrient soil (formula TN8), and the amount of Pb accumulate in maize biomass of TN1 was also the highest in all formulas. However, the treatment effect of TN1 formula did not get the optimal value, because the total amount of biomass was the lowest in comparison with the other formulas. Formula TN5 gained the optimal value of treatment process, since they could remove the highest amount of lead out from the soil. The concentration of phosphorus and nitrogen in formula TN5 were 752.5 ppm and 87.6 ppm, so they did not prevent AM fungi from inoculating maize root, and they were not too low for maize to achieve high biomass.

Địa chỉ:

Viện Công nghệ Môi trường,
Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Nhận bài ngày 8 tháng 8 năm 2009