

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA N, P LÊN KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG VÀ TÍCH LŨY ASENI CỦA LOÀI DƯƠNG XỈ *Pteris vittata* L.

BÙI THỊ KIM ANH, TRẦN VĂN TỰA, ĐẶNG ĐÌNH KIM, PHẠM THỊ HUYỀN TRANG

1. MỞ ĐẦU

Trên thế giới, công nghệ sử dụng thực vật trong xử lý ô nhiễm (Phytoremediation) đang được chú ý nghiên cứu và được biết đến như là một giải pháp thân thiện môi trường và chi phí thấp. Trên 450 loài thực vật có khả năng hấp thu cao kim loại đã được công bố. Các họ thực vật chiếm ưu thế về loài được xác định là “Siêu hấp thụ” như Asteraceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Cyperaceae, Convolvulaceae, Fabaceae, ... có thể tích lũy nhiều hơn 100 lần với sự tích tụ kim loại và phi kim của các cây bình thường [12, 14]. Trong số những kim loại nặng (KLN) ô nhiễm trong đất, Asen (As) là một nguyên tố phổ biến bởi nó là tạp chất trong hầu hết các loại quặng kim loại Cu, Pb, Zn, Sn... Trong nghiên cứu, ứng dụng phương pháp Phytoremediation vào xử lý As trong đất, loài dương xỉ *Pteris vittata* đã được phát hiện là loài có khả năng siêu tích lũy Asen [6]. Khả năng hấp thụ và tích lũy As trong mô một cách tuyệt vời của *Pteris vittata* là phát hiện của 2 nhà khoa học ChenTongBin ở Trung Quốc vào năm 1997 và Lena Q.Ma ở Mỹ [6, 10]. Theo đó thì *P.vittata* có thể phát triển bình thường trên đất có chứa $50 \div 4030$ mg As/kg, thậm chí nó còn có thể sống được trên phần quặng đuôi có chứa hàm lượng As lên đến 23400 mg/kg. Nội bật nhất là nghiên cứu cơ chế sinh lý học và sinh hóa như khả năng hút, chống chịu và khử độc As của cây. Loài này có thể hút 10% As từ đất trong vòng 1 năm mà lượng kim loại hấp thu được chủ yếu tập trung ở phần trên mặt đất. Ngoài ra, *P.vittata* còn là cây sống lâu năm, một lần trồng cho nhiều lần thu hoạch [5]. Sự bổ sung các chất khác nhau theo nhiều con đường có thể làm tăng khả năng xử lý ô nhiễm bằng thực vật [3]. Trong bài báo này, chúng tôi muốn đề cập tới chất bổ sung là P và N để làm tăng khả năng xử lý ô nhiễm As của loài dương xỉ *Pteris vittata*.

Cả As và P đều thuộc nhóm V trong bảng tuần hoàn các nguyên tố hóa học. Nhờ các đặc tính hóa học tương đồng nhau mà chúng có các con đường hoạt động trong hệ thống đất và cây như nhau. Me-harg và nnk [3] đã nhận xét rằng Arsenate và Photphate được hấp thu giống nhau trong cùng hệ thống và As được loại bỏ khỏi môi trường đất thông qua hệ thống hút thu của Photpho. P là chất dinh dưỡng cần thiết cho cây trong khi As là yếu tố không cần thiết và gây độc cho cây. P và As cạnh tranh với nhau trong suốt quá trình hấp thu của cây. Lượng tích lũy As luôn bị kìm hãm bởi sự hấp thu P khi P được bổ sung. Bởi vậy, hoạt động sinh lý của As và P trong cây rất khác nhau [3]. Tuy nhiên ảnh hưởng của P lên sự tích lũy As trong cây vẫn còn nhiều điều chưa được biết rõ. Do vậy, trong nghiên cứu này chúng tôi đánh giá ảnh hưởng của P như là phân bón lên khả năng hút thu As của *Pteris vittata*.

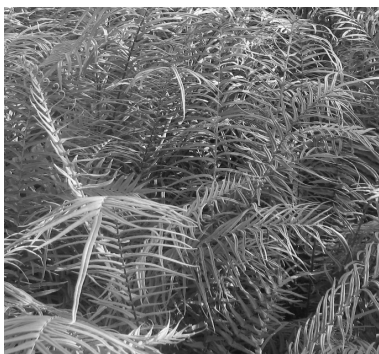
Sự tích lũy As của cây khi môi trường được cung cấp những nguồn N hay hàm lượng N khác nhau là khác nhau. Khi đưa 5 dạng N khác nhau bổ sung vào các thí nghiệm rồi đem đánh giá sự tích lũy As của các thí nghiệm với công thức đối chứng không bổ sung N [8]. Kết quả cho thấy tổng lượng As tích lũy trong sinh khối của cây giảm dần theo dãy sau: $\text{NH}_4\text{HCO}_3 >$

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 > \text{Co}(\text{NH}_2)_2 > \text{Ca}(\text{NO}_3)_2 > \text{KNO}_3 > \text{CK}$. Vì vậy, bổ sung N dưới dạng NH_4^+ là phù hợp nhất cho *P.vittata* để tăng khả năng tách chiết As trong đất. Trong thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của N lên sự sinh trưởng và tích lũy As của cây dương xỉ *P.vittata* ở báo cáo này chúng tôi sử dụng nguồn N bổ sung dưới dạng $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ với mục đích tìm ra hàm lượng N phù hợp kích thích cây phát triển và tích lũy Asen.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là loài dương xỉ *Pteris vittata* L. được lấy từ khu vực ô nhiễm kim loại nặng xung quanh các mỏ chì và kẽm tại Làng Hích, Thái Nguyên. Đây là loài thân cỏ thuộc họ Pteridaceae, phân bố phổ biến ở Việt Nam, các nước châu Á, Âu, Phi và châu Úc. Cây thu về được trồng và chăm sóc trong vườn ươm để chuẩn bị cho thí nghiệm. Đất sử dụng cho nghiên cứu là đất vườn có hàm lượng As là 24,9ppm, photpho tổng số là 435,7ppm, nitơ tổng số là 640ppm và pH = 7,87.



Hình 1. Ảnh minh họa cây dương xỉ *Pteris vittata* L. sử dụng trong nghiên cứu

2.2. Phương pháp phân tích

- Xác định tổng N theo phương pháp Kjendhal, xác định tổng P theo phương pháp Ascorbic-antimoantartrat

- Xác định hàm lượng Asen trong rễ, thân và đất trên máy quang phổ hấp thụ nguyên tử (Atomic Absorption Spectrophotometer - AAS), hãng Shimazu (Nhật Bản), seri: AA -6000 tại Phòng Phân tích độc chất môi trường, Viện Công nghệ môi trường, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Để phân tích hàm lượng As trong cây, cây dương xỉ được chia ra hai phần: Phần trên mặt đất gọi chung là thân (bao gồm thân và lá lược) và phần dưới mặt đất gọi chung là rễ (bao gồm gốc và rễ).

2.3. Bố trí thí nghiệm

2.3.1. Bố trí thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của P lên sinh trưởng và tích lũy As của cây dương xỉ *Pteris vittata*

Chúng tôi thiết lập 6 công thức thí nghiệm bổ sung vào đất trồng nồng độ P khác nhau dưới dạng $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ như sau: 0, 200, 400, 600, 800 và 1000 ppm. Lượng N, K và As được bổ sung

vào các thí nghiệm là như nhau, N bổ sung là 0,6 g/chậu dưới dạng urê, K là 0,486 g/ chậu dạng KCl và As là 300 ppm/ chậu dưới dạng $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Mỗi công thức được lặp lại 03 lần. Cây được trồng trong thí nghiệm là cây gieo từ bào tử, được lựa chọn với chiều cao và số lá tương tự nhau (cây có khoảng 4 hoặc 5 lá; chiều cao khoảng 5 cm). Mỗi chậu thí nghiệm có 1 kg đất và thí nghiệm tiến hành trong 04 tháng.

2.3.2. Bố trí thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của N lên sự sinh trưởng và tích lũy As của cây dương xỉ *Pteris vittata*

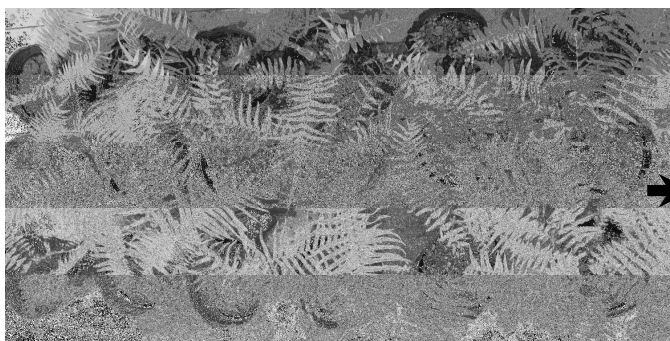
6 công thức bổ sung vào đất trồng nồng độ N khác nhau dưới dạng $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ đã được thiết lập như sau: 0, 100, 200, 300, 400, 500 ppm. Lượng P, K và As được bổ sung vào các thí nghiệm là như nhau, P bổ sung là 1,51 g/chậu dưới dạng NaH_2PO_4 , K là 0,486 g/ chậu dạng KCl và As là 300 ppm/ chậu dưới dạng $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Mỗi công thức lặp lại 03 lần. Cây được trồng trong thí nghiệm là những cây gieo từ bào tử, được lựa chọn như thí nghiệm với P. Mỗi chậu thí nghiệm có 1 kg đất và thí nghiệm tiến hành trong 04 tháng. Tất cả các thí nghiệm trên đều được trồng trong nhà kính với ánh sáng tự nhiên.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của P lên sự sinh trưởng và tích lũy As của cây dương xỉ *Pteris vittata*.



Hình 2. Nghiên cứu ảnh hưởng của P lên sinh trưởng và tích lũy As của *P.vittata* sau 1 tháng thí nghiệm

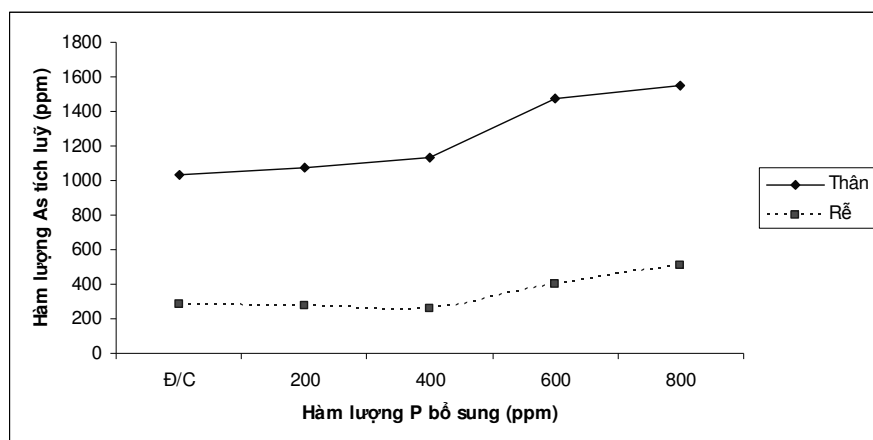


Hình 3. Nghiên cứu ảnh hưởng của P lên sinh trưởng và tích lũy As của *P.vittata* sau 3 tháng thí nghiệm.

Sau 4 tháng thí nghiệm, chúng tôi thu hoạch để đánh giá sinh trưởng và tích lũy As của loài dương xỉ *Pteris vittata* dưới ảnh hưởng của các nồng độ P khác nhau. Ở công thức bổ sung P là 1000 ppm, cây chỉ sống được sau 9 tuần thí nghiệm còn ở nồng độ P bổ sung từ 0 – 800 ppm, cây vẫn sống và có sự tăng trưởng sinh khối. Một số kết quả nghiên cứu trước đây cũng cho thấy, sự cạnh tranh giữa hấp thu Asen và Photpho đã được ghi nhận trong các loài thực vật phổ biến như lúa, lúa mạch, rau và trong thực vật chống chịu Asen [1, 3, 9, 11, 13]. Hàm lượng As trong rễ, thân, lá và hạt của lúa đều giảm khi tăng hàm lượng P lên quá cao. Tuy nhiên, kết quả từ những nghiên cứu gần đây cho rằng không có sự cạnh tranh giữa P và As trong cây ở nồng độ P thấp. Theo nghiên cứu của Chen Tongbin, khi bổ sung P với nồng độ thích hợp vào các chậu

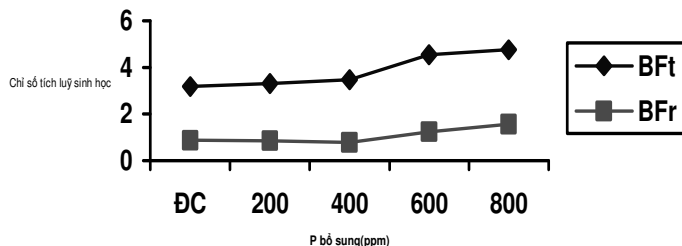
thí nghiệm sẽ tăng cường khả năng sinh trưởng và tích lũy As của *Pteris vittata* lên nhiều lần [3]. Kết quả hấp thu As của *P.vittata* ở các công thức bổ sung $P \leq 800$ ppm được trình bày theo hình 4.

Kết quả hình 4 trên cho thấy, khi bổ sung P với lượng 0, 200 và 400 ppm thì lượng As tích lũy trong thân lần lượt là 1034; 1073,9 và 1133,16 ppm còn trong rễ lần lượt là 286,59; 277,13 và 258,63 ppm. Phân tích trên chỉ ra rằng, khi bổ sung lượng P không quá 400 ppm thì lượng As tích lũy trong thân và rễ có sự thay đổi nhưng không đáng kể. Ở thí nghiệm lượng P bổ sung là 600 và 800 ppm, hàm lượng As tích lũy trong cây tăng cao, tích lũy trong thân tương ứng là 1478,95 và 1549,17 ppm; trong rễ tương ứng là 403,51 và 506,22 ppm. Sự chênh lệch trên cho thấy, khả năng tích lũy As của *P.vittata* có chịu ảnh hưởng tích cực của hàm lượng P bổ sung. Ở nồng độ bổ sung 800 ppm P, sự tích lũy As trong thân và rễ tăng cao nhất lần lượt gấp 1,5 và 1,77 lần so với thí nghiệm không bổ sung P.



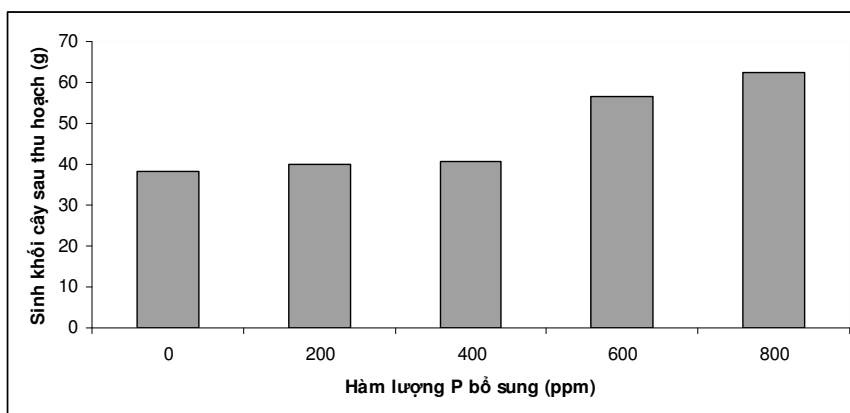
Hình 4. Hàm lượng As tích lũy trong rễ và thân *Pteris vittata* sau thí nghiệm

Một trong những ưu điểm của *P.vittata* khi xử lý KLN là khả năng tích lũy một lượng KLN ở phần trên mặt đất cao hơn nhiều so với phần rễ. Chỉ số tích lũy sinh học BF (được tính bằng hàm lượng kim loại tổng số trong cây so với hàm lượng kim loại tổng số trong môi trường nơi cây mọc) là thông số rất quan trọng trong đánh giá khả năng tích lũy kim loại nặng ở môi trường có mức độ ô nhiễm khác nhau. Trong báo cáo này, chúng tôi dùng chỉ số BFt và BFr tương ứng là chỉ số giữa hàm lượng kim loại nặng trong thân và trong rễ so với hàm lượng trong môi trường đất. Chỉ số BF trong thí nghiệm này chịu ảnh hưởng rất lớn bởi hàm lượng P bổ sung. Kết quả chỉ ra ở hình 2 cho thấy, BFt và BFr dao động từ 3,18 - 3,48 và từ 0,79 - 0,88, tương ứng khi lượng P bổ sung ≤ 400 ppm. Đối với lượng P bổ sung > 400 ppm thì tỷ số BFt và BFr tăng lên đáng kể. Đặc biệt ở thí nghiệm P bổ sung = 800 ppm, hệ số BFt và BFr đạt lần lượt là 4,77 và 1,56. Hệ số BFt và BFr này đã cao gấp 1,5 và 1,77 lần, tương ứng khi so với công thức không bổ sung P. Kết quả này càng khẳng định hơn nữa về hàm lượng P bổ sung từ 600 ppm - 800 ppm thì khả năng tích lũy As là cao nhất.



Hình 5. Ảnh hưởng của hàm lượng P bổ sung lên hệ số tích lũy sinh học của cây

Sau khi kết thúc thí nghiệm, sinh khối tươi của các công thức khác nhau được cân và tính trung bình. Chúng tôi coi trọng lượng ban đầu của các cây được lựa chọn là gần bằng nhau vì các cây trên đều được trồng từ bào tử ở cùng một thời điểm và được lựa chọn trước khi đặt thí nghiệm là có chiều cao và số lá như nhau.

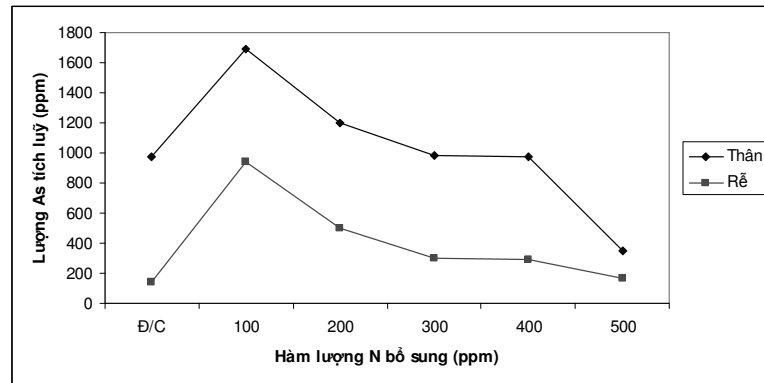


Hình 6. Trọng lượng tươi của các cây ở các công thức thí nghiệm khác nhau

Kết quả hình 6 cho thấy, ở công thức thí nghiệm bổ sung 800 ppm P, cây dương xỉ có khả năng tăng trưởng tốt nhất. Cải tạo đất với việc bổ sung P để tăng khả năng sinh trưởng và tích lũy As của dương xỉ là việc quan trọng trong nghiên cứu về sử dụng thực vật để xử lý ô nhiễm. Trong thí nghiệm này, có thể nhận xét như sau: lượng P bổ sung > 400 ppm thì cây có khả năng sinh trưởng và tích lũy As cao. Đặc biệt, hiệu quả xử lý As tốt nhất là ở nồng độ P bổ sung 800 ppm.

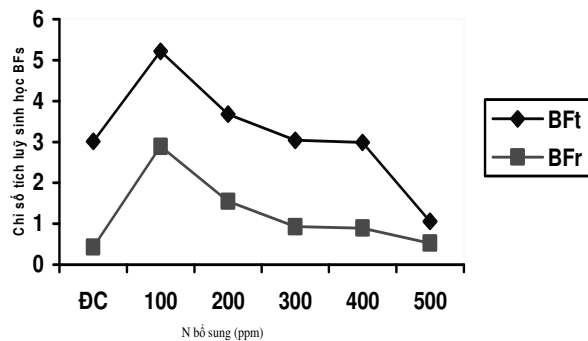
3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của N lên sự sinh trưởng và tích lũy As của cây dương xỉ *Pteris vittata*

Sau 04 tháng thí nghiệm, chúng tôi đã thu được kết quả về sự tăng trưởng cũng như hấp thu As của *Pteris vittata* ở các công thức bổ sung N khác nhau. Khác với thí nghiệm bổ sung P, ở tất cả các nồng độ N bổ sung, cây vẫn sống được nhưng sinh khối sau thu hoạch ở các nồng độ N bổ sung khác nhau thì khác nhau. Kết quả về khả năng tích lũy As của *P. vittata* ở các nồng độ N bổ sung khác nhau được trình bày ở hình 7 sau:



Hình 7. Hàm lượng As tích lũy trong rễ và thân *Pteris vittata* sau thí nghiệm

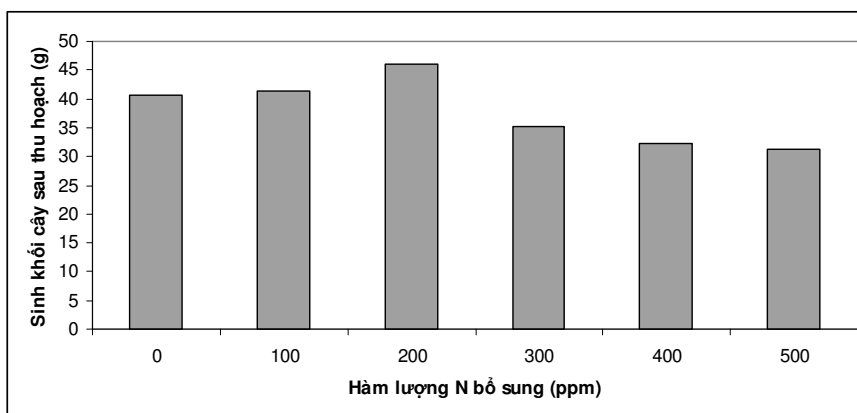
Kết quả thu được cho thấy, lượng As tích lũy trong thân tăng cao nhất là 1694,31 ppm ở công thức bổ sung 100 ppm N. Lượng As tích lũy trong thân ở các công thức bổ sung 200 và 300 ppm vẫn cao hơn so với công thức đối chứng không bổ sung N. Tuy vậy, sự tích lũy As giảm nhẹ so với đối chứng ở nồng độ N bổ sung 400 ppm nhưng đã giảm mạnh ở công thức bổ sung 500 ppm N. Lượng As tích lũy trong rễ cũng cao nhất ở công thức bổ sung 100 ppm và sự tích lũy giảm dần theo sự tăng của lượng N bổ sung.



Hình 8. Ảnh hưởng của hàm lượng N bổ sung lên chỉ số tích lũy sinh học của cây

Kết quả chỉ ra ở hình 8 cho thấy, BF tăng mạnh ngay ở hàm lượng N bổ sung là 100 ppm. Chỉ số BFt và BFr dao động từ 1,06 - 5,21 và từ 0,43 - 2,89, tương ứng. BFt ở công thức bổ sung N là 100 ppm đã tăng cao gấp 1,73 lần so với đối chứng. Chỉ số này cao hơn hẳn khi so sánh với công thức bổ sung 200, 300 ppm N. Ở công thức bổ sung 400 ppm N thì chỉ số BF giảm nhẹ còn ở công thức bổ sung 500 ppm N thì chỉ số này giảm mạnh so với đối chứng. Kết quả cho thấy khả năng tích lũy của cây giảm khi bổ sung lượng N \geq 400 ppm đất.

Sinh khối sau khi kết thúc thí nghiệm của các công thức khác nhau được cân và tính trung bình. Kết quả thu được chỉ ra trên hình 9.



Hình 9. Trọng lượng tươi của các cây ở các công thức bổ sung N khác nhau

Kết quả thể hiện ở hình trên cho thấy, công thức thí nghiệm bổ sung 200 ppm P, cây có khả năng tăng trưởng tốt nhất. Tuy nhiên, ở hàm lượng N bổ sung là 100 ppm cây cũng tăng trưởng mạnh hơn so với các công thức khác. Kết quả thu được từ thí nghiệm này cho thấy, *P. vittata* sinh trưởng và tích lũy As cao nhất khi lượng N bổ sung từ 100 ppm - 200 ppm.

4. KẾT LUẬN

Từ kết quả thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố dinh dưỡng lên khả năng sinh trưởng và tích lũy As của dương xỉ *Pteris vittata*, chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

Hàm lượng As tích lũy ở phần trên mặt đất của *Pteris vittata* luôn cao hơn nhiều so với phần rễ. Đây là một ưu điểm rất lớn của loài dương xỉ này khi ứng dụng vào xử lý môi trường.

Khả năng sinh trưởng và tích lũy As của *Pteris vittata* chịu ảnh hưởng tích cực của hàm lượng P và N cho vào thí nghiệm, khi bổ sung lượng P ≤ 400 ppm và lượng N > 200 ppm thì hàm lượng As tích lũy trong cây có sự thay đổi so với đối chứng nhưng không đáng kể.

Sự sinh trưởng và tích lũy As của cây dương xỉ *P.vittata* cao nhất là khi bổ sung N ở nồng độ từ 100 ppm – 200 ppm và P bổ sung ở nồng độ 800 ppm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Asher C. J., Reay, P. F. - Arsenic uptake by barley seedlings, Aust J. of Plant Physiol **6** (1979) 459.
2. Bùi Thị Kim Anh, Đặng Đình Kim, Trần Văn Tựa, Lê Đức, Nguyễn Trung Kiên, Đỗ Tuấn Anh, Nguyễn Thị Hoài Phương - Khả năng chống chịu và tích lũy As của hai loài dương xỉ thu từ vùng khai thác mỏ, Tạp chí Khoa học và Công nghệ **46**, 6A (2008) 248-258.
3. Chen Tongbin, Fan Zhilian, Lei Mei, Guang Zechun & Wei Chaoyang - Effect of phosphorus on arsenic accumulation in As-hyperaccumulator *Pteris vittata* L. and its implication. Chinese Science Bulletin **47** (2002) 1876-1879.
4. Cong Tu and Lena Q. Ma - Effects of Arsenic Concentrations and Forms on Arsenic Uptake by the Hyperaccumulator Ladder Brake. Journal of Environmental Quality **31** (2001) 641-647.

5. Chen Tong Bin, Liao Xiao-Yong, Huang Ze-Chun, Lei Mei, Li Wen-xue, Mo Liang- Yu, An Zhi-Zhuang, Wei Chao-Yang, Xiao Xi-yuan and Xie Hua – Phytoremediation of Arsenic-Contaminated Soil in China. *Methods in Biotechnology, Phytoremediation: Methods and Reviews* **23** (2006) 391-395.
6. Chen Tong-Bin, Chao- Yang Wei – Arsenic accumulation by two brake fern growing on an Arsenic mine and their potential in phytoremediation, *Chemosphere* **63** (2006) 1048-1053.
7. Dang Dinh Kim, Bui Thi Kim Anh, Tran Van Tua et al. Heavy metal pollution in soils of four mining areas in Thai Nguyen province, Vietnam and potential for phytoremediation. Seminar on Environmental Science and Technology Issues Related to the Urban and Coastal Zone Development. Osaka, Japan, 26th to 28th of November, 2008, pp. 376-383.
8. Liao XY, Chen TB et al - Selecting appropriate forms of nitrogen fertilizer to enhance soil arsenic removal by *Pteris vittata*: a new approach in Phytoremediation, *Int J. Phytoremediation* **9** (4) 269-280.
9. Lin H. C. - Problems of soil arsenic: a study based on soilchemical and plant-nutritional aspects, *Memoirs of the College of Agriculture, National Taiwan University* **11** (2) (1977) 1.
10. Ma LQ, Komar KM, Tu C, Zhang WH, Cai Y, Kennelley ED - A fern that hyperaccumulates arsenic – a hardy, versatile, fast-growing plant helps to remove arsenic from contaminated soils. *Nature* **409** (2001): 579-579.
11. Meharg, A. A., Macnair, M. R. - An altered phosphate uptake system in arsenate-tolerant *Holcus lanatus* L, *New Phytol.* **116** (1) (1990) 29.
12. Salt D.E. et al. - Phytoremediation: Anovel strategy for removal of toxic metals from environmental using plants. *Biotechnology* **13** (1995) 468-473.
13. Sharples, J. M., Meharg, A. A., Chambers, S. M. et al. - Arsenate sensitivity in ericoid and ectomycorrhizal fungi, *Environ. Toxic. and Chem.* **18** (8) (1999) 1848.
14. <http://en.wikipedia.org/wiki/Phytoremediation>

SUMMARY

EFFECT OF N, P ON GROWTH AND ARSENIC ACCUMULATION IN FERN *Pteris vittata* L.

More and more attention has been paid to the research on Phytoremediation and hyperaccumulators. Nowadays, the people concentrate in how to enhance the abilities of plants to accumulate more contaminants by addition of amending reagents. In this study, the pot experiments were conducted to understand the effect of N, P on Arsenic accumulation in *Pteris vittata* L.. Our study was undertaken to examine the effect of Phosphorus and Nitrogen on Arsenic accumulation in the As – Hyperaccumulator, as well as to verify the feasibility of Phosphorus and Nitrogen applied as fertilizer to increase the arsenic accumulation in *Pteris vittata*. The result showed that, Arsenic concentration in the frond is higher than that in the root of the fern. With the P added ≥ 400 ppm and N added 100 - 200 ppm, Arsenic accumulation in the fern were increased sharply. Obviously, Nitrogen and Phosphorus is also a potential accelerator for Phytoremediation of Arsenic contaminated soil.

Địa chỉ:

Nhận bài ngày 12 tháng 8 năm 2009

Viện Công nghệ môi trường, Viện KH&CN Việt Nam.