



Original Article

Grass *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash for Immobilization of Copper in the Orange-growing Soil Contaminated by the Overuse of Fungicides: A Case Study at Cao Phong, Hoa Binh

Tran Thi Tuyet Thu^{1,*}, Dao Thi Trang¹, Pham Thi My Phuong²

¹VNU University of Science, 334 Nguyen Trai, Thanh Xuan, Hanoi, Vietnam

²Institute for Regional Research and Development, 70 Tran Hung Dao, Hoan Kiem, Hanoi, Vietnam

Received 03 March 2023

Revised 31 March 2023; Accepted 10 April 2023

Abstract: The overuse of copper (Cu) fungicides has resulted in an accumulation of Cu in the orange-growing soil in Cao Phong district, Hoa Binh province. In this study, we analyzed the fractionation and accumulation of Cu in soils treated with two types of fungicides: Norshield 86.2WG and Epolists 85WP. Using vetiver grass has been known as a approach to immobilize heavy metals in soil, herein, its effect on the fate of Cu was also considered. The bioavailability of Cu was relatively high for both the tested soils treated with Norshield 86.2WG (~9.82-11.03%) and Epolists 85WP (~8.46-10.79%). Noting that Cu in different fractions increased following the order F1 (water soluble) < F2 (exchange adsorption) < F3 (special adsorption) < F4 (bound with Fe/Al hydroxide) < F5 (bound to organic matter) < F6 (remaining form). The use of vetiver grass resulted in different accumulation levels of Cu between natural soil (9.5 ± 0.53 ppm) and Cu-added soils (from 16.17 ± 1.72 to 27.13 ± 1.31 ppm). The application of Norshield 86.2WG and Epolists 85WP has exacerbated the contamination of soil by Cu, therefore, to manage and enhance soil health in this area, we need to consider reducing the use of fungicides in the orange-growing areas.

Keywords: Cao Phong orange, fungicides, Cu pollution, Cu accumulation, Vetiver grass.

* Corresponding author.

E-mail address: tranthituyetthu@hus.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1094/vnuees.4942>

Sử dụng cỏ *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash để xử lý đất trồng cam ô nhiễm đồng do lạm dụng thuốc diệt nấm: Nghiên cứu trường hợp ở Cao Phong, Hòa Bình

Trần Thị Tuyết Thu^{1,*}, Đào Thị Trang¹, Phạm Thị Mỹ Phương²

¹Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội,
334 Nguyễn Trãi, Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

²Viện Nghiên cứu và Phát triển vùng, 70 Trần Hưng Đạo, Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 03 tháng 3 năm 2023

Chỉnh sửa ngày 31 tháng 03 năm 2023; Chấp nhận đăng ngày 10 tháng 4 năm 2023

Tóm tắt: Việc lạm dụng thuốc diệt nấm chứa đồng (Cu) đã dẫn đến sự tích tụ Cu trong đất trồng cam tại huyện Cao Phong, tỉnh Hòa Bình. Nghiên cứu này đánh giá quá trình chuyển hóa và tích lũy các dạng Cu trong đất dưới ảnh hưởng của hai loại thuốc diệt nấm: Norshield 86.2WG và Epolists 85WP. Bên cạnh đó, vai trò của cỏ Vetiver đối với sự cố định Cu trong đất cũng được quan tâm nghiên cứu. Khả năng dễ tiêu sinh học của Cu tương đối cao trong đất thí nghiệm bổ sung Norshield 86.2WG (~9,82-11,03%) và Epolists 85WP (~8,46-10,79%). Đáng chú ý là Cu ở các dạng khác nhau tăng dần theo thứ tự: F1 (hòa tan trong nước) < F2 (hấp phụ trao đổi) < F3 (kết tủa cacbonat) < F4 (liên kết với hydroxit Fe/Al) < F5 (liên kết với chất hữu cơ) < F6 (dạng còn lại). Cỏ Vetiver cho thấy rõ mức độ tích lũy Cu khác nhau trong đất đối chứng ($9,5 \pm 0,53$ ppm) và đất bổ sung Cu (từ $16,17 \pm 1,72$ đến $27,13 \pm 1,31$ ppm). Sử dụng Norshield 86.2WG và Epolists 85WP đã làm tăng nguy cơ ô nhiễm Cu trong đất, do đó, việc giảm thiểu các hóa chất này trong các khu vực trồng cam nên được đưa vào chiến lược quản lý đất.

Từ khóa: Cam Cao Phong, thuốc diệt nấm, ô nhiễm đồng, tích lũy đồng, cỏ Vetiver.

1. Mở đầu

Cây có múi (*Citrus* L.) thuộc họ **Rutaceae** và họ phụ **Aurantioidae**, gồm: cây cam, chanh, quýt, bưởi được trồng phổ biến ở 140 quốc gia trên thế giới thuộc các vùng khí hậu nhiệt đới và cận nhiệt đới ẩm. Việt Nam là một trong số 20 quốc gia có tổng sản lượng cây có múi cao nhất toàn cầu, với diện tích đất trồng cây có múi 256,86 nghìn ha và tổng sản lượng quả 2,46 triệu tấn (FAO, 2021). Với đặc thù trồng độc canh mật độ dày 400-500 cây ha⁻¹, có nhiều nơi lên đến

600-700 cây ha⁻¹, lại chịu tác động của thời tiết khí hậu nên gặp rất nhiều dịch bệnh hại do côn trùng, tuyến trùng, nấm, vi khuẩn và vi rút.

Sử dụng thuốc diệt nấm chứa đồng (*Copper fungicides*) để phòng trừ bệnh hại cây có múi đã gây tăng tích lũy đồng (Cu) trong đất. Minh chứng, tại vùng trồng cam tập trung ở huyện Cao Phong, tỉnh Hòa Bình đã sử dụng rất nhiều thuốc diệt nấm trong kiểm soát bệnh hại, làm tăng lượng Cu bổ sung vào đất ở mức cao hơn 3-4 lần quy định của Châu Âu (~ 4 kg ha⁻¹ năm⁻¹), cao nhất trong năm 2019 là 17,3-18,51 kg Cu ha⁻¹

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: tranthituyetthu@hus.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1094/vnuees.4942>

năm⁻¹. Tổng lượng Cu trong lá cam bánh tẻ tại các vườn này sau một tháng phun thuốc đã đạt 28,54-138,86 mg trong 1 kg sinh khối lá khô và Cu tích lũy trong cỏ *Axonopus compressus* mọc dưới tán cây cam đạt 90-140 mg trong 1 kg sinh khối cỏ khô [1]. Thuốc diệt nấm chứa Cu có thời gian tồn lưu lâu ngày trên bề mặt lá và quả cam. Lượng tồn dư trong lá cam sau 56 ngày phun Cu₂O, Cu(OH)₂ và Cu₂(OH)₃Cl là 144,3; 160,3 và 118,7 ppm, theo thứ tự [2]. Quá trình lắng đọng và tích lũy Cu vào đất theo nước mưa, nước tưới và phân hủy tàn dư hữu cơ đã làm tăng hàm lượng Cu trong lớp đất mặt tại nhiều vườn trồng cam lâu năm ở Cao Phong. Trong đó, Cu tích lũy nhiều nhất ở độ sâu 0-30 cm, rồi giảm dần theo độ sâu phẫu diện đất, và chủ yếu được cố định trong các hợp phần hữu cơ và khoáng sét. Tại vườn cam 17 năm, ở độ sâu 0-10 cm tích lũy 239,6 mg Cu kg⁻¹ đất và 327,7 mg Cu kg⁻¹ sét, và sét được xác định là hợp phần chính làm tăng cường sự tích lũy Cu trong đất. Mức độ tụ keo của khoáng sét khi bổ sung muối đồng và thuốc diệt nấm vào đất giảm dần từ: CuSO₄ > Nano Cu, Copperion 77WP, Norshield 86.2WG > PN Coppercide > Epolists 85WP > Curenox OC 85WP [3].

Trong đất, Cu tồn tại chủ yếu là Cu (II) ở dạng tự do và tạo phức dạng chelat linh động với các axit hữu cơ khối lượng phân tử thấp trong dung dịch đất, đồng thời, hấp phụ trên bề mặt keo đất (khoáng sét, hydroxit Fe/Al và chất hữu cơ). Mức độ rủi ro phụ thuộc vào khả năng dễ tiêu sinh học của Cu trong mỗi loại đất có tính chất khác nhau. Ở cùng lượng Cu bổ sung vào đất nhưng khi tỷ lệ % chất hữu cơ và sét càng cao thì Cu được hấp phụ càng lớn. Khả năng hấp phụ Cu

trong đất trồng cây có múi ở Cao Phong (53% sét) cao hơn đất phù sa ở Phù Cù (Hưng Yên) (45,7% sét) và thấp nhất là đất xám bạc màu ở Hiệp Hòa (Bắc Giang) (36,1% sét) [4].

Trước thực trạng, đất trồng cây có múi ở Cao Phong đang bị độc hóa nghiêm trọng và giảm nhanh về diện tích. Cỏ *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash, gọi tắt là cỏ Vetiver, được biết đến là loài thực vật có sinh khối cao, có thể trồng xen trong vườn cam để cải tạo độ phì và xử lý đất ô nhiễm [5]. Hàm lượng Cu tích lũy trong cỏ Vetiver được trồng trong đất vườn đạt 10,52-39,11 ppm và trong đất thải mỏ đạt 126,01-165,43 ppm [5]. Nghiên cứu này đánh giá ảnh hưởng của 2 loại thuốc diệt nấm Norshield 86.2WG và Epolists 85WP được sử dụng phổ biến ở Cao Phong đến các dạng tồn tại của Cu trong đất làm cơ sở kiểm soát hóa chất trừ bệnh cây có múi và đề xuất giải pháp ứng dụng cỏ Vetiver để xử lý đất ô nhiễm Cu.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Đất thí nghiệm: đất dùng trong 2 thí nghiệm là đất xám feralit (Ferralic Acrisols) được lấy ở độ sâu 0-30 cm trong vườn trồng cam liên tục từ năm 1980 đến nay là 4 chu kỳ tại khu 1 thị trấn Cao Phong, huyện Cao Phong. Đất có phản ứng rất chua (pH_{KCl} = 4,44, độ chua thủy phân H_p = 3,67), cacbon hữu cơ (OC) ở mức trung bình thấp (1,38%), đất giàu sét (59,54% sét) và Cu tổng số (Cu_{ts}) là 114,4 ppm, cao hơn QCVN 03-MT:2015/BTNMT quy định là 100 ppm (Bảng 1).

Bảng 1. Tính chất của đất trồng cam trước thí nghiệm

pH _{H2O}	pH _{KCl}	H _p (meq/100 g đất)	OC (%)	Cấp hạt (%)			Cu _{ts} ppm
				Sét	Limon	Cát	
5,33	4,44	3,67	1,38	59,54	19,26	21,20	114,4

Hóa chất thí nghiệm: thành phần hóa học của 2 loại thuốc diệt nấm Norshield 86.2WG và Epolists 85WP được trình bày chi tiết trong Bảng 2. Trong đó, hóa chất Norshield 86.2WG chứa 71,20% Cu nguyên chất, ở dạng tồn tại

Cu₂O, Cu hóa trị I, kích thước 296,5 nm, được bọc bởi các polyme chứa nhiều nhóm chức, có hàm lượng chất hữu cơ hòa tan (DOM) cao 11,90 mg g⁻¹, thế zeta -35,9 mV; Hóa chất Epolists 85WP chứa 49,70% Cu nguyên chất, ở

dạng tồn tại $\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$, Cu hóa trị II, có kích thước 1,566 μm , DOM thấp 2,08 mg g^{-1} và có tỷ

lệ các nhóm chức thấp hơn so với Norshield 86.2WG, thế zeta -50,3 mV [3].

Bảng 2. Thành phần hóa học của hóa chất diệt nấm chứa đồng

Hóa chất	Dạng tồn tại	Hóa trị	Cu (%)	DOM (mg g^{-1})	Kích thước (nm)	Thế zeta (mV)	Quốc gia sản xuất
Norshield 86.2WG	Cuprous oxide Cu_2O	Cu (I)	71,20	11,90	296,5	-35,9	Na Uy
Epolists 85WP	Oxychloride $\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$	Cu (II)	49,70	2,08	1566	-50,3	Ấn Độ

(Nguồn: D. T. Trang và nnk, 2021) [3].

Cỏ Vetiver thí nghiệm: giống cỏ *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash được nhân hom trên nền cát sạch có bổ sung dung dịch dinh dưỡng để đảm bảo không có sự tích lũy Cu trong cây giống, sau đó các nhánh cỏ bánh tẻ được cắt bằng nhau với kích thước 25 cm và tách rời nhau trước khi trồng vào đất.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm 1: mục đích nhằm đánh giá ảnh hưởng của 2 loại thuốc diệt nấm Norshield 86.2WG và Epolists 85WP đến dạng tồn tại của Cu trong đất. Căn cứ vào thực tế sử dụng thuốc diệt nấm chứa Cu trong phòng trừ bệnh hại cam ở Cao Phong để bố trí thí nghiệm [1]. Thí nghiệm gồm có 9 công thức, mỗi công thức thí nghiệm (CTTN) được lặp lại 3 lần, trong đó gồm có 01 công thức đối chứng CT0 không bổ sung thuốc diệt nấm, 4 CTTN (CT1N, CT2N, CT3N và CT4N) bổ sung Norshield 86.2WG tương ứng với lượng 10, 15, 20 và 30 kg Cu ha^{-1} và 4 CTTN (CT1E, CT2E, CT3E và CT4E) bổ sung Epolists 85WP tương ứng với lượng 10, 15, 20 và 30 kg Cu ha^{-1} . Cân 100g đất đã rây qua rây 2 mm cho các hộp nhựa có thể tích 200 ml có nắp thông khí, rồi bổ sung lượng hóa chất Norshield 86.2WG và Epolists 85WP tương ứng với mỗi CTTN. Sau đó, thêm 40 ml nước cất và duy trì độ ẩm 40% (tương ứng với độ ẩm trong vườn sau khi tưới hoặc sau những ngày mưa). Căn cứ vào thực tế tại địa phương phun thuốc kiểm soát bệnh hại với tần suất trung bình 1 tháng 1 lần, và khi dịch bệnh bùng phát mạnh phải phun 1 tháng 2

lần để đặt mẫu ở điều kiện phòng thí nghiệm trong thời gian 15 ngày. Sau đó, các mẫu đất được đem sấy khô ở 70 °C đến khối lượng không đổi rồi nghiền mịn trong cối sứ để xác định các dạng tồn tại của Cu và $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$, pH_{KCl} trong đất.

Thí nghiệm 2: mục đích nhằm đánh giá khả năng tích lũy Cu của cỏ Vetiver trồng trên nền đất ô nhiễm Cu. Thí nghiệm gồm 5 công thức, mỗi CTTN được lặp lại 3 lần. Cân chính xác 3 kg đất khô không khí đã rây qua rây 2 mm cho vào mỗi chậu thí nghiệm. Tương ứng với các công thức từ CT0 (đối chứng), CT1, CT2, CT3 và CT4 tiến hành bổ sung 0, 100, 200, 300 và 400 mg Cu kg^{-1} đất, sau đó đồng nhất, thêm nước cất để duy trì độ ẩm 40% rồi trồng vào mỗi chậu 3 cây cỏ Vetiver. Theo dõi thí nghiệm trong thời gian 60 ngày (ứng với thực tế người dân thường cắt cỏ 60-90 ngày lần⁻¹), thu sinh khối, rửa sạch dưới vòi nước, tráng lại bằng nước cất, cắt nhỏ, sấy khô, nghiền mịn để phân tích Cu_{ts} .

Phân tích mẫu đất và mẫu cỏ: các chỉ tiêu tính chất đất, hàm lượng Cu_{ts} , Cu dễ tiêu (Cu_{dt}) trong đất và Cu trong cỏ Vetiver được phân tích theo các phương pháp chuẩn hiện hành. Chiết Cu có khả năng dễ tiêu sinh học bằng muối $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 1N tại pH 4,5 (tỷ lệ 1:5). Phá Cu_{ts} trong đất và trong cỏ bằng HCl và HNO_3 đặc (3:1) trong lò vi sóng.

Thành phần hóa học của thuốc diệt nấm: được kế thừa từ kết quả nghiên cứu của Dao và nnk (2021) [3]. Kích thước hạt của thành phần thuốc diệt nấm được xác định bằng máy đo kích thước hạt (Malvern Zetasizer Nano ZS), hàm lượng Cu thực tế của thuốc diệt nấm được xác

định theo quy trình: cân 0,25 g mẫu rắn cho vào ống Teflon 20 ml chịu nhiệt, rồi thêm 10 mL HNO₃ đậm đặc (Merck) và gia nhiệt trong lò phá mẫu vi sóng ở 200 °C trong 30 phút, sau đó làm nguội mẫu đến nhiệt độ phòng, định mức lên 100 mL bằng nước deion. Cuối cùng, định lượng Cu trong dung dịch đã phá mẫu bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử AAS. Vì các polyme xuất hiện dưới dạng hợp chất của thuốc diệt nấm nên chúng có thể được giải phóng ở dạng hòa tan (DOM) và tham gia vào các tương tác với keo sét, do đó, DOM cũng được phân tích bằng máy phân tích TOC (Sievers M5310 C).

Chiết các dạng tồn tại của Cu trong đất: bằng phương pháp chiết liên tục [6] có hiệu chỉnh nhỏ. Quy trình chiết được thực hiện như sau: cân 1 g đất cho vào ống Teflon 20 ml chịu nhiệt, rồi thêm 10 ml nước cất pH = 7, lắc trên máy lắc trong 1 giờ, li tâm thu F1 (dạng hòa tan trong nước); sau đó, thêm 10 ml CH₃COONH₄ 1M pH = 7 vào phần cặn sau thu F1, lắc và li tâm thu F2 (dạng hấp phụ trao đổi); cặn còn lại thêm 10 ml CH₃COONH₄ 1M pH = 5, lắc rồi li tâm thu F3 (dạng hấp phụ đặc biệt và liên kết với CO₃²⁻); thêm 10 ml NH₂OH.HCl 0,04M trong CH₃COOH 25% vào phần cặn, lắc ở 60 °C, li tâm thu F4 (dạng liên kết với oxit/hydroxit Fe/Al/Mn); Tiếp tục thêm 7,5 ml dung dịch H₂O₂ 30% (pH = 2) vào phần cặn lắc đều, sau đó gia nhiệt ở 80 °C trong 5,5 giờ, để nguội, thêm 2,5 ml CH₃COONH₄ 3,2M trong HNO₃ 20%, lắc trong 30 phút thu F5 (dạng liên kết với chất hữu cơ); và cuối cùng, phần cặn dư còn lại thêm 10 ml axit HCl 7M, đun liên tục trong 6 h đến khi gần cạn, thêm 1ml dung dịch HNO₃ 2M, định mức lên 10 ml, để nguội thu F6 (dạng còn lại liên kết với khoáng sét và các hợp phần khác).

Hàm lượng Cu trong các dung dịch phá mẫu đất, mẫu cỏ và thuốc diệt nấm và dung dịch chiết liên tục được đo trên máy quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS 280FS Agilent).

Xử lý thống kê số liệu: xử lý số liệu và vẽ đồ thị trên Excel. Kết quả đạt được trong Bảng 3 và Bảng 4 là giá trị trung bình (Mean) của 3 lần lặp lại (n=3) trong mỗi CTTN và độ lệch chuẩn ± SD (Standard Deviation) mô tả độ phân tán của khoảng giá trị dữ liệu so với giá trị trung bình.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Ảnh hưởng của thuốc diệt nấm đến tích lũy các dạng Cu trong đất

Kết quả của thí nghiệm 1 cho thấy trong các CTTN được bổ sung thuốc diệt nấm Norshield 86.2WG và Epolists 85WP đều có Cu_{ts} và Cu_{dt} tăng so với đối chứng, lượng tăng tỷ lệ thuận với lượng Cu bổ sung vào đất. Tỷ lệ các dạng tồn tại của Cu trong đất được bổ sung 2 loại hóa chất vẫn tuân theo quy luật chung như trong nghiên cứu [1], tăng dần theo thứ tự từ F1 > F2 > F3 > F4 > F5 > F6. Trong đó Cu tồn tại chủ yếu ở dạng F6, chiếm tỉ lệ cao nhất 79,46-83,54% trong các CTTN bổ sung Norshield 86.2WG và 80,66-83,39% trong các CTTN bổ sung Epolists 85WP. Đặc biệt chú ý là Cu ở dạng F1 và dạng F3 trong các CTTN bổ sung Norshield 86.2WG đều cao hơn Epolists 85WP và lượng hòa tan tăng dần theo lượng bổ sung 10-30 kg Cu ha⁻¹, ngược lại, Cu ở dạng F2 trong các CTTN bổ sung Norshield 86.2WG lại thấp hơn Epolists 85WP (Bảng 3 và Hình 1a, b). Nguyên nhân có thể liên quan đến sự khác nhau về thành phần hóa học của 2 loại hóa chất (Bảng 2). Dạng tồn tại của Cu trong Norshield 86.2WG là đồng oxit Cu₂O (71,20% Cu), Cu (I), có kích thước nano, còn Cu trong Epolists 85WP ở dạng phức chất Cu₂(OH)₃Cl, (49,70% Cu), Cu (II), có kích thước μm.

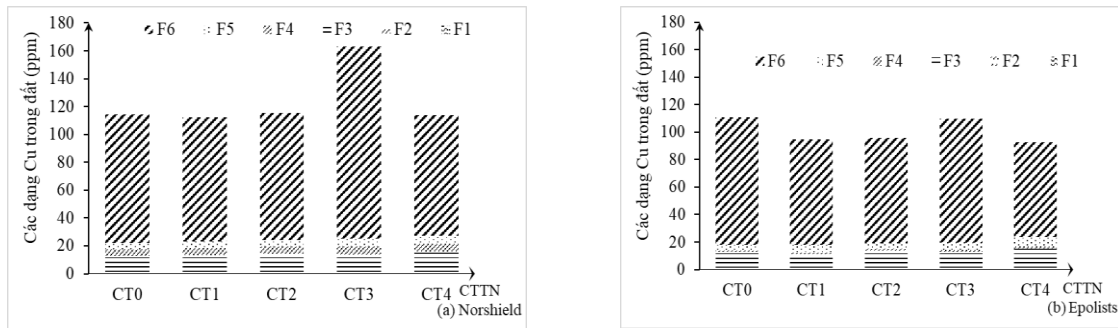
Mặc dù tỷ lệ DOM/Cu trong Norshield 86.2WG cao hơn Epolists 85WP nhưng do kích thước hạt nhỏ hơn nên Cu trong Norshield 86.2WG có khả năng phân ly trong nước tốt hơn để thực hiện các phản ứng hóa học với các hợp phần đặc biệt trong đất mạnh hơn. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu [3] đã chỉ ra khả năng keo tụ của Cu trong hóa chất Norshield 86.2WG cao hơn Epolists 85WP. Theo đó, các hạt thuốc diệt nấm có thể xuất hiện dưới dạng keo trong dung dịch đất sẽ tương tác với keo đất và các loại thuốc diệt nấm có thành phần hóa học khác nhau về kích thước, hàm lượng DOM và Cu²⁺ hòa tan có ảnh hưởng nhiều đến tính chất của keo sét ở mức độ khác nhau. Do đó, việc sử dụng nhiều thuốc diệt nấm chứa Cu có thể làm tăng khả năng keo tụ sét và tích lũy Cu trong đất. Bảng 3 cũng

cho thấy phần Cu còn lại ở dạng F6 trong các CTTN bổ sung Epolists 85WP cao hơn Norshield 86.2WG. Theo lý thuyết, thì dạng Cu còn lại này chủ yếu là dạng liên kết bền vững với các khoáng sét và những hợp phần khác [6]. Tuy nhiên trong nghiên cứu này không loại trừ lượng Cu tồn dư trong hóa chất chưa được hòa tan hoàn toàn bởi nước và axit yếu nên vẫn còn lại ở dạng

hợp chất nhiều hơn và đã được phá bằng dung dịch cường thủy. Như vậy, ở cùng một liều lượng Cu được bổ sung trong 1 thời điểm xử lý hóa chất thì hiệu lực hòa tan Cu trong nước của hóa chất Norshield 86.2WG cao hơn Epolists 85WP nên sẽ tăng hiệu quả kiểm soát bệnh hại hơn nhưng cũng tiềm ẩn thêm rủi ro đối với môi trường đất.

Bảng 3. Kết quả độ chua và các dạng Cu trong đất thí nghiệm 1

Mẫu	Đối chứng	Thí nghiệm bổ sung Norshield 86.2WG					Thí nghiệm bổ sung Epolists 85WP			
CTTN	CT0	CT1N	CT2N	CT3N	CT4N	CT1E	CT2E	CT3E	CT4E	
Các dạng Cu trong đất (ppm)	F1	0,08±0,01	0,10±0,01	0,13±0,01	0,15±0,01	0,18±0,01	0,09±0,02	0,11±0,01	0,13±0,01	0,15±0,02
	F2	0,22±0,02	0,24±0,02	0,26±0,05	0,31±0,08	0,57±0,01	0,25±0,04	0,32±0,01	0,38±0,02	0,65±0,02
	F3	12,25±0,35	13,13±0,39	14,25±0,01	14,84±0,02	16,45±0,02	13,32±0,06	13,6±0,02	14,13±0,22	15,04±1,76
	F4	1,0±0,15	1,11±0,32	1,24±0,09	1,28±0,01	1,65±0,01	1,08±0,17	1,20±0,04	1,33±0,21	1,44±0,1
	F5	4,64±0,56	4,84±0,71	4,87±0,9	5,82±0,01	6,7±0,17	4,82±0,13	4,85±0,08	5,61±0,97	6,78±0,59
	F6	96,21±0,64	98,35±1,04	98,65±0,98	98,67±0,07	98,85±0,01	98,17±0,18	99,32±0,1	99,49±1,23	100,34±2,35
	Cu _{dt}	10,96±0,31	11,73±0,35	12,6±0,7	11,89±0,42	13,72±2,83	9,96±2,04	11,91±0,79	11,16±1,61	13,42±1,58
	Cu _{ts}	114,4	117,73	119,4	121,07	124,4	117,73	119,4	121,07	124,4
pH _{H2O}	5,32±1,15	4,73±0,02	4,85±0,17	4,81±0,06	4,87±0,05	5,14±0,05	5,13±0,13	5,09±0,04	5,02±0,06	
pH _{KCl}	4,12±0,03	4,1±0,06	4,15±0,09	4,12±0,02	4,1±0,02	4,31±0,02	4,32±0,01	4,28±0,04	4,24±0,03	

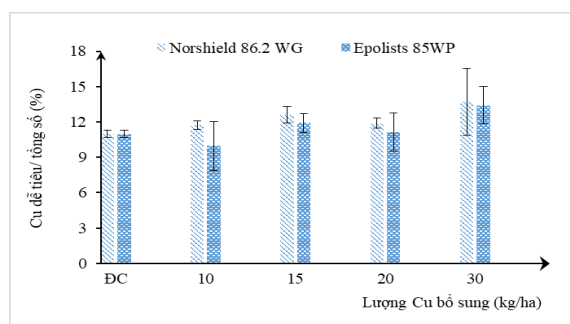


Hình 1. Kết quả hàm lượng các dạng Cu trong đất sau 15 ngày bổ sung Norshield (a) và Epolists (b).

Trên Bảng 3 và Hình 2 cho thấy Cu_{dt} tồn tại ở các dạng (F1, F2 và F3) trong các CTTN đều cao hơn so với đối chứng (10,96±0,31 ppm), chiếm tỷ lệ 9,82-11,03% khi bổ sung Norshield 86.2WG và 8,46-10,79% khi bổ sung Epolists 85WP. Và lượng Cu_{dt} tăng tỷ lệ thuận với lượng Cu bổ sung vào đất, tăng từ 11,73±0,35 đến 13,72±2,83 ppm khi bổ sung Norshield 86.2WG và từ 9,96±2,04 đến 13,42±1,58 ppm khi bổ sung

Epolists 85WP. Kết quả đã chỉ ra lượng Cu_{dt} ở các CTTN bổ sung Norshield 86.2WG đều cao hơn so với bổ sung Epolists 85WP. Đáng chú ý là ở lượng bổ sung 10 kg Cu ha⁻¹ đã tăng Cu_{dt} nhiều nhất là 1,17 ppm. Nguyên nhân liên quan đến Cu trong Norshield 86.2WG có kích thước nano nên dễ hòa tan, đồng thời thành phần hóa học của Norshield 86.2WG chứa tỷ lệ DOM cao hơn, chứa nhiều nhóm chức COOH hơn [3] nên

lượng H^+ phân li nhiều hơn đã góp phần làm tăng tính linh động của Cu trong dung dịch đất (Bảng 3). Do Cu rất độc với vi sinh vật (VSV) đất nên khi tăng Cu_{dt} sẽ tác động đến hệ sinh thái đất. Khả năng chống chịu của VSV đất giảm dần từ nấm rễ > vi nấm > xạ khuẩn > vi khuẩn gram (+) > vi khuẩn gram (-). Enzim nhạy cảm nhất với Cu là phosphatasa > dehydrogenaza > β -glucosidaza >> ureaza [7]. Theo độc tính của thuốc, mức độ gây độc giảm dần từ: Cu^{2+} > nano Cu^0 > nano $Cu(OH)_2$ > nano CuO > Cu có kích thước μm [8]. Sau 24 giờ bổ sung 100 mg Cu L^{-1} vào đất trồng cam Cao Phong, dù tổng lượng Cu hấp phụ đạt 98,96% và chỉ còn lại 1,04 mg Cu L^{-1} trong dung dịch đất nhưng đã gây giảm mạnh thành phần và số lượng VSV tổng số, giảm từ 25×10^3 CFU g^{-1} đất xuống 10×10^3 CFU g^{-1} đất, giảm 40% so với đối chứng [4].



Hình 2. Tỷ lệ Cu dễ tiêu so với Cu tổng số trong đất sau 15 ngày bổ sung Norshield 86.2WG và Epolists 85WP.

Từ thực tế này, cho thấy việc sử dụng nhiều hóa chất Norshield 86.2WG và Epolists 85WP đều có thể gây nên những tác động tức thời hoặc rủi ro tiềm ẩn đối với hệ sinh vật đất và cây trồng. Vì vậy, giải pháp trồng thử nghiệm cỏ Vetiver xen canh trong vườn cây có múi được cho là phù hợp để cải tạo độ phì kết hợp với xử lý đất bị ô nhiễm Cu bằng biện pháp sinh học.

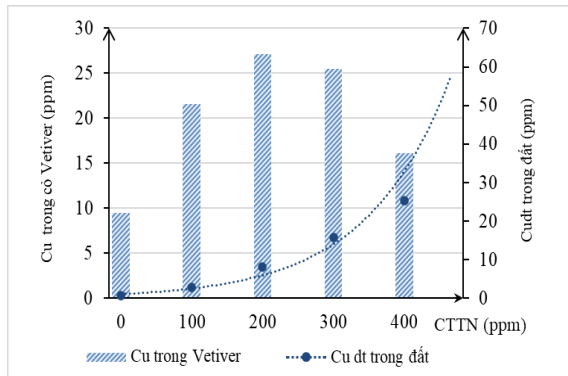
3.2. Tích lũy Cu trong cỏ Vetiver

Kết quả thí nghiệm 2 đánh giá sự tích lũy Cu của cỏ Vetiver trồng trên đất gây ô nhiễm Cu cho thấy, với lượng bổ sung Cu từ 0, 100, 200, 300 và 400 ppm sau 60 ngày đã tăng tích lũy Cu trong cỏ Vetiver ở các CTTN so với đối chứng (Bảng 4 và Hình 3). Trong đó lượng Cu tích lũy thấp nhất ở CT0 là $9,5 \pm 0,53$ ppm và tăng cao từ CT1 đến CT3, và đạt cao nhất ở CT2 là $27,13 \pm 1,31$ ppm, sau đó giảm ở CT3 và giảm mạnh ở CT4, ở lượng Cu bổ sung cao nhất 400 ppm thì chỉ tích lũy $16,17 \pm 1,72$ ppm. Như vậy, có thể thấy được khi Cu_{ts} trong đất tăng từ 414,4 đến 514,4 ppm và Cu_{dt} trong khoảng 15,7-25,23 ppm đã có biểu hiện ảnh hưởng đến sự tích lũy Cu trong cây cỏ Vetiver thí nghiệm. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Liu và nnk (2009), sau 9 tuần trồng cỏ Vetiver trên nền đất gây ô nhiễm Cu thì ở lượng bổ sung 500 ppm có lượng Cu tích lũy trong cỏ giảm so với lượng bổ sung 100 ppm và giảm rất mạnh ở lượng bổ sung 1500 đến 3000 ppm [9].

Bảng 4. Kết quả hàm lượng Cu trong đất và trong cỏ Vetiver ở thí nghiệm 2

CTTN	CT0	CT1	CT2	CT3	CT4
Lượng Cu bổ sung (ppm)	0	100	200	300	400
Cu_{ts} trong đất trước trồng cỏ (ppm)	114,4	214,4	314,4	414,4	514,4
Cu_{dt} trong đất sau 60 ngày thí nghiệm (ppm)	$0,84 \pm 0,12$	$2,94 \pm 0,31$	$8,13 \pm 1,24$	$15,7 \pm 1,3$	$25,23 \pm 1,16$
Tích lũy Cu trong cỏ Vetiver (ppm)	$9,5 \pm 0,53$	$21,57 \pm 1,15$	$27,13 \pm 1,31$	$25,53 \pm 1,39$	$16,17 \pm 1,72$
Hệ số tích lũy sinh học (BAF)	0,08	0,10	0,09	0,06	0,03
Lượng Cu được lấy khỏi đất từ sinh khối cỏ Vetiver ($kg\ ha^{-1}\ năm^{-1}$)*	0,2	0,45	0,57	0,53	0,34

(*Lượng Cu được lấy khỏi đất bởi cỏ Vetiver trồng trong điều kiện thực tế thu được 20 tấn khô $ha^{-1}\ năm^{-1}$).



Hình 3. Quan hệ giữa Cu tích lũy trong cỏ Vetiver và Cu_{dt} trong đất sau 60 ngày thí nghiệm.

Mặc dù, Cu là nguyên tố vi lượng thiết yếu trong các enzym, protein và các chất truyền điện tử để đảm bảo duy trì mọi hoạt động của tế bào, tuy nhiên, với đặc tính hóa học của Cu tồn tại ở các trạng thái oxi hóa-khử với hai dạng hóa trị Cu (I) và Cu (II) nên khi thừa Cu sẽ gây ra nhiều rối loạn chuyển hóa trong tế bào do sự hình thành các gốc oxi tự do có hoạt tính (Reactive Oxygen Species, ROS) gây tổn hại đến cấu trúc của các DNA, protein và màng tế bào [10]. Ở hàm lượng Cu_{dt} trong đất < 5 ppm thực vật bị thiếu Cu, ở hàm lượng 15-30 ppm gây độc cho thực vật và trên 30 ppm gây độc nghiêm trọng [11]. Hình 3 mô tả mối quan hệ giữa tổng lượng Cu được tích lũy trong cỏ Vetiver và Cu_{dt} trong đất thí nghiệm cho thấy, ở lượng Cu bổ sung 300, 400 ppm vào đất thì Cu_{dt} tăng lên nhưng sự tích lũy Cu trong cỏ Vetiver lại giảm dần so với lượng Cu bổ sung 200 ppm. Trong đất đối chứng CT0 (hiện trạng đất tại vườn) có Cu tổng số 114,4 ppm, sau 60 ngày trồng cỏ thì Cu_{dt} trong đất giảm mạnh, còn 0,84 ppm và ở CT1 bổ sung 100 ppm Cu còn 2,94 ppm, đều ở mức thiếu hụt Cu cho cây có mùi; và lượng Cu_{dt} tăng đều từ CT2 đến CT4, tương ứng là 8,13 đến 25,23 ppm. Tại CT3 có Cu_{dt} 15,70 đã giảm sự hút thu Cu vào cây cỏ. Đối sánh với nghiên cứu [12] cho thấy, ở hàm lượng Cu_{dt} 15,42 ppm thì khả năng chống chịu của rễ cây bưởi đỏ Hòa Bình chỉ còn 51,47% so với đối chứng và ở hàm lượng Cu_{dt} > 80,71 ppm thì gần như ức chế hoàn toàn sự phát triển chiều dài rễ. Từ đây, có thể thấy ở ngưỡng Cu_{dt} > 15 ppm đã

ảnh hưởng rõ đến sự phát triển của cỏ Vetiver và cây có mùi trồng tại Cao Phong.

Cu là 1 trong 7 nguyên tố vi lượng rất cần thiết đối với cây có mùi, khi hàm lượng Cu_{dt} thấp hơn 5 ppm có thể gây thiếu hụt Cu, ngược lại sẽ rất độc khi Cu ở hàm lượng cao. Vì vậy, ở đất chua, giàu sét, chất hữu cơ ở mức trung bình thấp thì chỉ nên trồng xen cỏ Vetiver trong các vườn cây có mùi ở Cao Phong bị ô nhiễm Cu ở mức cảnh báo với hàm lượng Cu_{ts} ≥ 300 ppm và Cu_{dt} ≥ 15 ppm.

Trong điều kiện thực tế, tổng sinh khối cỏ Vetiver trồng quanh các gốc cam tại vườn lấy mẫu đất nghiên cứu đạt 20,91 tấn khô ha⁻¹ năm⁻¹. Như vậy, có thể dự báo được lượng Cu lấy đi theo sinh khối cỏ ít nhất đạt từ 0,2 đến 0,57 kg Cu ha⁻¹ năm⁻¹. Các giải pháp quản lý và bảo vệ đất tại huyện Cao Phong, tỉnh Hòa Bình nên trồng xen loại cỏ này kết hợp với việc dùng các loại thuốc trừ bệnh có nguồn gốc sinh học sẽ góp phần hạn chế nguồn tích tụ Cu trong đất tại vùng nghiên cứu.

4. Kết luận

Khi bổ sung vào đất, Cu trong thuốc diệt nấm Norshield 86.2WG có kích thước nano, hòa tan trong dung dịch đất nhiều hơn so với Epolists 85WP có kích thước μm, đã làm tăng các dạng tồn tại của Cu trong đất so với đối chứng. Tỷ lệ các dạng tồn tại tăng dần từ F1 (hòa tan trong nước) > F2 (hấp phụ trao đổi) > F3 (hấp phụ đặc biệt) > F4 (liên kết với hydroxit Fe/Al/Mn) > F5 (liên kết với chất hữu cơ) > F6 (dạng còn lại). Từ nguồn thuốc diệt nấm bổ sung 10-20 kg Cu ha⁻¹ năm⁻¹ đã làm tăng tích lũy Cu_{ts} và Cu_{dt} trong đất thí nghiệm. Tích lũy Cu trong cỏ Vetiver sau 60 ngày trồng đạt 9,5 ± 0,53 ppm ở CTĐC, và từ 16,17 ± 1,72 đến 27,13 ± 1,31 ppm trong các CTTN bổ sung 100, 200, 300 và 400 mg Cu kg⁻¹ đất, ở hàm lượng Cu_{dt} > 15,70-25,23 ppm đã giảm tích lũy Cu vào cỏ Vetiver. Trong đất chua, giàu sét và chất hữu cơ ở mức trung bình thấp thì chỉ nên trồng cỏ Vetiver khi Cu_{ts} trên 300 ppm và Cu_{dt} trên 15 ppm.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ kinh phí từ đề tài: “Đánh giá hiện trạng ô nhiễm kim loại nặng, dư lượng thuốc bảo vệ thực vật và đề xuất giải pháp canh tác bền vững phục vụ tái canh cam ở Hòa Bình và Tuyên Quang”, Viện Nghiên cứu và Phát triển vùng, Bộ Khoa học và Công nghệ là đơn vị chủ trì. Xin trân trọng cảm ơn!

Tài liệu tham khảo

- [1] T. T. T. Thu, N. T. Thao, N. T. Van, H. T. H. Huong, N. T. H. Thinh, N. N. Minh, Copper Encapsulated in Grass-derived Phytoliths: Characterization, Dissolution Properties and the Relation of Content to Soil Properties, *Journal of Environmental Management*, Vol. 249, 2019, <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109423>.
- [2] G. C. Schutte, C. Kotze, J. G. V. Zyl, P. H. Fourie, Assessment of Retention and Persistence of Copper Fungicides on Orange Fruit and Leaves Using Fluorometry and Copper Residue Analyses, *Crop Protection*, Vol. 42, 2012, pp. 1-9, <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.04.015>.
- [3] D. T. Trang, T. T. T. Thu, N. M. Anh, N. N. Ly, P. T. M. Phuong, T. Tsubota, N. N. Minh, Fungicide Application Can Intensify Clay Aggregation and Exacerbate Copper Accumulation in Citrus Soils, *Environmental Pollution*, Vol. 288, 2021, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117703>.
- [4] P. T. M. Phuong, N. T. L. Anh, T. Q. Huy, D. T. Trang, D. T. Hoan, N. M. Phuong, T. T. T. Thu, Risk Investigation of Copper Accumulation in the Citrus Growing Soils, *Journal of Environment, Ministry of Resource and Environment, Vietnam*, 2021, pp. 46-50 (in Vietnamese).
- [5] R. Banerjee, P. Goswami, S. Lavania, A. Mukherjee, U. C. Lavania, Vetiver Grass is A Potential Candidate for Phytoremediation of Iron Ore Mine Spoil Dumps, *Ecological Engineering*, Vol. 132, 2019, pp. 120-136, <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2018.10.012>.
- [6] A. Tessier, P. G. C. Campbell, M. Bisson, Sequential Extraction Procedure for the Speciation of Particulate Trace Metals, in *Analytical Chemistry*, Vol. 51, Iss. 7, 1979, pp. 844-851, <https://doi.org/10.1021/ac50043a017>.
- [7] D. F. Calviño, P. S. Rovira, A. Polo, M. D. Raviña, M. A. Estévez, C. Plaza, C., Enzyme Activities in Vineyard Soils Long-term Treated with Copper-based Fungicides, *Soil Biology and Biochemistry*, Vol. 42, No. 12, 2010, pp. 2119-2127, <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.08.007>.
- [8] A. A. Keller, A. S. Adeleye, J. R. Conway, K. L. Garner, L. Zhao, G. N. Cherr, J. Hong, J. L. G. Torresdey, H. A. Godwin, S. Hanna, Z. Ji, C. Kaweeteerawat, S. Lin, H. S. Lenihan, R. J. Miller, A. E. Nel, J. R. P. Videia, S. L. Walker, A. A. Taylor, N. Z. Mena, Comparative Environmental Fate and Toxicity of Copper Nanomaterials, *NanoImpact*, Vol. 7, 2017, pp. 28-40, <https://doi.org/10.1016/j.impact.2017.05.003>.
- [9] X. Liu, Y. Shen, L. Lou, C. Ding, Q. Cai, Copper Tolerance of the Biomass Crops Elephant Grass (*Pennisetum purpureum Schumacher*), Vetiver Grass (*Vetiveria zizanioides*) and the Upland Reed (*Phragmites australis*) in Soil Culture, *Biotechnology Advances*, Vol 27, No. 5, 2009, pp. 633-640, <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.04.017>.
- [10] V. Kumar, S. Pandita, G. P. S. Sidhu, A. Sharma, K. Khanna, P. Kaur, A. S. Bali, R. Setia, Copper Bioavailability, Uptake, Toxicity and Tolerance in Plants: A Comprehensive Review, *Chemosphere*, Vol. 262, 2021, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127810>.
- [11] M. Adrees, S. Ali, M. Rizwan, M. Ibrahim, F. Abbas, M. Farid, M. Z. Rehman, M. K. Irshad, S. A. Bharwana, The Effect of Excess Copper on Growth and Physiology of Important Food Crops: A Review, in *Environmental Science and Pollution Research*, Vol. 22, Iss. 11, 2015, pp. 8148-8162, <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4496-5>.
- [12] T. T. T. Thu, N. N. Linh, Effects of Copper Concentration on Germination and Seedling Growth of Citrus maxima in Orange Orchard Soil in Cao Phong, Hoa Binh, *VNU Journal of Science: Earth and Environmental Sciences*, Vol. 32, No. 1S, 2016, pp. 350-356 (in Vietnamese).