



ẢNH HƯỞNG CỦA THÂN CÂY NGÔ KHÔ KẾT HỢP VỚI SELEN ỨC CHẾ HẤP THỤ ĐỒNG LÊN CÂY CẢI THÌA

Lê Kim Hồng⁽¹⁾ Phạm Huỳnh Yến Vy⁽¹⁾ Đỗ Lê Phương Vy⁽¹⁾

Nguyễn Võ Hữu Tình⁽¹⁾ Lý Thùy Minh⁽¹⁾ Trần Thị Anh Thư⁽¹⁾

⁽¹⁾ Trường Đại học Thủ Dầu Một

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 26/05/2024

Ngày nhận kết quả bình duyệt:
20/03/2025

Ngày chấp nhận đăng:
09/2025

Title:

The effect of zea mays combined with selenium on the inhibition of copper phytotoxicity to pak choy

Keywords:

Zea mays, Copper, Bioavailability, Pak choy, Selenium, Fraction

Từ khóa:

Thân ngô khô, Đồng, Sinh khả dụng, Cây cải thìa, Selen, Phân đoạn

ABSTRACT

This study aimed to explore the effects of zea mays (ZM) combined with selenium (Se) on alleviating copper (Cu) toxicity through the change of Cu bioavailability in soil. Experiments in this study determined the parameters of: growth of pak choy, total Cu concentration in the plant and the change in distribution of Cu fractions in the soil before planting and after harvesting. Results showed that RM combined with Se application may detoxify Cu at excessive concentrations (200 mg/kg) by transforming mobile Cu fractions into semi-mobile and non-mobile Cu fractions (FEM-Cu, OM-Cu, and RES-Cu), resulting in decreased Cu concentrations in the roots and stems of pak choy and increased plant growth. However, this inhibition may significantly occur only when ZM was at appropriate levels (20 g/kg). In addition, ZM combined with Se also increased the Cu concentration in plant and promoted pak choy growth at low Cu concentration (50 mg/kg). Good correlation between the proportions of mobile Cu fractions (exchangeable EXC-Cu and bound to carbonates CAB-Cu) with Cu concentration in plants and plants growth were observed. This study suggested that ZM combined with Se play important role in prevent Cu uptake by plant tissue at excessive concentrations through transformations into immobile Cu fractions. Accordingly, the research team suggested that besides Cu, we should study other heavy metals in the soil such as Zn, Al, Pb, Cd, Hg, Ni, etc. and use other agricultural waste products such as: coffee grounds, fruit peels, etc. or a combination of agricultural waste and other chemical fertilizers.

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này là nhằm đánh giá các ảnh hưởng của phế phẩm nông nghiệp (thân ngô khô-ZM) kết hợp với selen (Se) để giảm bớt độc tính của đồng (Cu) thông qua sự thay đổi sinh khả dụng của Cu trong đất. Các thí nghiệm trong nghiên cứu xác định các thông số về: sự sinh trưởng của cây cải thìa, tổng nồng độ Cu trong cây và sự thay đổi phân bố của các phân đoạn Cu trong đất trước khi trồng và sau khi thu hoạch. Kết quả nghiên cứu cho thấy rằng ZM kết hợp với Se có thể khử độc Cu ở nồng độ vượt tiêu

chuẩn (200 mg/kg) bằng cách chuyển đổi các phân đoạn Cu di động (EXC-Cu và CAB-Cu) thành các phân đoạn Cu ít di động và bền vững (FEM-Cu, OM-Cu, và RES-Cu) trong đất; dẫn đến nồng độ Cu trong rễ và thân cây cải thìa cũng giảm và cây tăng trưởng hơn. Tuy nhiên, sự giảm nồng độ Cu chỉ có thể xảy ra đáng kể khi ZM ở mức thích hợp (20 g/kg). Ngoài ra, ZM kết hợp với Se lại làm tăng nồng độ Cu trong cây và thúc đẩy sự phát triển của cây cải thìa ở nồng độ Cu thấp (50 mg/kg). Hơn nữa, nghiên cứu cũng cho thấy mối tương quan tốt giữa tỷ lệ các phân đoạn Cu di động (EXC-Cu và CAB-Cu) với nồng độ Cu trong cây cải thìa và sự phát triển của cây. Nghiên cứu này đã kết luận rằng ZM kết hợp với Se đóng vai trò quan trọng trong việc ngăn cản sự hấp thụ Cu lên cây ở nồng độ vượt chuẩn thông qua việc biến đổi thành các phân đoạn Cu bền vững. Theo đó, nhóm nghiên cứu đề nghị ngoài Cu nên nghiên cứu thêm các loại kim loại khác trong đất như Zn, Al, Pb, Cd, Hg, Ni... và sử dụng thêm các loại phế phẩm nông nghiệp khác như: bã cà phê, vỏ trái cây... hoặc kết hợp giữa phế phẩm nông nghiệp và các loại phân bón hóa học khác.

1. GIỚI THIỆU

Đồng (Cu) là chất dinh dưỡng cần thiết cho hầu hết các sinh vật và đóng vai trò là chất đồng nhân tố cho các protein trong các quá trình sinh lý đa dạng ở thực vật, chẳng hạn như: quang hợp, vận chuyển điện tử, hô hấp, chuyển hóa thành tế bào (Andre, Larondelle & Evers, 2010). Tuy nhiên, khi Cu dư thừa sẽ gây độc hại cho tế bào do nó đóng vai trò xúc tác cho các phản ứng tăng quá trình oxy hóa ở thực vật (Andre và cs., 2010). Cu xâm nhập vào đất nông nghiệp thông qua các hoạt động của con người, chẳng hạn như: khai thác kim loại, sử dụng thuốc trừ sâu, phân bón và hoạt động xả nước thải (Belon và cs., 2012; Ni & Ma, 2018; Grüter và cs., 2019). Các ion Cu được hấp thụ bởi rễ cây và vận chuyển đến các bộ phận ở trên của cây, gây ra những tác động bất lợi đến sự phát triển của cây trồng, dẫn đến đe dọa sức khỏe con người (Ren, Sun, Wang, Luo & Ma, 2014). Do vậy, chúng ta cần phải có những biện pháp khả thi để xử lý đất canh tác bị ô nhiễm Cu nhằm giảm nồng độ Cu độc hại, thúc đẩy tính bền vững của sản xuất nông nghiệp và an toàn thực phẩm, cũng là giảm nguy cơ gây hại sức khỏe cộng đồng.

Trong vài thập kỷ qua, các kỹ thuật xử lý kim loại nặng trong đất như: rửa đất (Makino và cs., 2008), giải hấp nhiệt ở nhiệt độ thấp (Qiu, Zhang, Dong, Feng và Lai, 2014), và xử lý bằng thực vật (Belimov và cs., 2005) đã được áp dụng. Mặc dù phương pháp rửa đất có thể loại bỏ các kim loại nặng ở dạng dễ trao đổi và hòa tan nhưng đồng thời nó cũng có thể loại bỏ các yếu tố thiết yếu của đất; ngoài ra, chi phí cho phương pháp này khá cao (Z. Wang, H. Wang, H. Wang, Q. Li & Y. Li, 2020). Phương pháp xử lý nhiệt cũng cho thấy sự ảnh hưởng của nó đến các đặc tính của đất. Do đó, chúng ta cần tìm ra một phương pháp tiếp cận khác nhằm giúp giảm sự tích tụ Cu trong thực vật nhưng vẫn duy trì sự sống của thực vật.

Tính di động và khả dụng sinh học của Cu trong đất chủ yếu bị ảnh hưởng bởi độ pH, các đặc tính liên kết và nồng độ của chất hữu cơ (OM) trong đất (Sauve, Hendershot và Allen, 2000; Michaud, Chappellaz và Hinsinger, 2008; Bravin và cs., 2012). Thân ngô khô (*Zea mays*, viết tắt là ZM) là nguồn hữu cơ có sẵn và đóng vai trò cung cấp K. Ngoài ra, chất hữu cơ cũng có thể liên kết với Cu trong đất, làm thay đổi tính di động và khả dụng sinh học của nó (Temminghoff, Van der Zee & de Haan, 1997). Selen (Se) là một chất

đinh dưỡng cần thiết cho con người và động vật, chủ yếu nhận được thông qua tiêu thụ ngũ cốc, rau, thịt và cá (Rayman, 2000). Gần đây, sử dụng Se để giảm kim loại nặng được xem như một chiến lược hiệu quả để giảm thiểu sự tích tụ kim loại nặng và những tác động có hại của kim loại nặng đối với cây trồng với chi phí thấp (Feng, Wei, Tu, Ding và Song, 2013; Wang và cs., 2016).

Tổng nồng độ kim loại trong đất không thể xác định chính xác khả năng di chuyển của kim loại từ đất sang thực vật (Shahid, Pinelli, Pourrut, Silvestre & Dumat, 2011). Thật vậy, sự hấp thụ và tích lũy kim loại nặng của thực vật phụ thuộc rất nhiều vào khả năng sinh học của chúng trong đất (Michaud, Bravin, Galleguillos và Hinsinger, 2007; Nguyen, Amyot và Labrecque, 2017). Do đó, kỹ thuật chiết tách tuần tự để phân tích các phân đoạn kim loại nặng có thể cung cấp thông tin về sự vận chuyển thực tế của chúng (Huang, Xie, Cao, Cai và Zhang, 2014; Monterroso và cs., 2014; Zhang, 2014). Các phân đoạn này có thể là sự kết hợp để giữ lại hoặc giải phóng Cu, do đó ảnh hưởng đến tính di động và khả dụng sinh học của Cu trong đất (Guan, He, Zhang và Bai, 2011). Vì vậy, nghiên cứu sự biến đổi các phân đoạn Cu trong đất là cần thiết để đánh giá sinh khả dụng.

Nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá ảnh hưởng của của phế phẩm nông nghiệp (thân ngô khô-ZM) kết hợp với Se ức chế sinh khả dụng Cu trong đất dựa trên việc xác định tổng nồng độ Cu trong thực vật và sự phân bố của các phân đoạn Cu trong đất. Sự biến đổi các phân đoạn Cu trong đất là chỉ số tốt để đánh giá mức độ hạn chế của quá trình hấp thụ và tích lũy sinh học Cu ở thực vật. Các mục tiêu cụ thể như sau: 1) Làm rõ vai

trò của ZM kết hợp Se đối với sự hấp thụ và di chuyển Cu trong cây; 2) Đánh giá cơ chế ức chế độc tính của Cu thông qua sự thay đổi các phân đoạn Cu trong đất; và 3) Xác định hàm lượng ZM thích hợp để hạn chế đáng kể sự hấp thụ Cu của cây.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Vật liệu thí nghiệm

Đất nông nghiệp được lấy ở độ sâu từ 0 cm đến 20 cm tại khu vực Chòm Sao, xã Hưng Định, thành phố Thuận An, tỉnh Bình Dương, Việt Nam theo Tiêu chuẩn chất lượng môi trường Việt Nam (TCVN 5297:1995). Các mẫu đất được làm khô hoàn toàn ở nhiệt độ phòng, sau đó đồng nhất qua sàng 5mm. Đất thí nghiệm là đất thịt pha sét có các tính chất lý hoá cơ bản như sau: tỷ trọng 3,09 g/cm³; mật độ 1,15 g/cm³; độ ẩm 21,1%; pH_{KCl} 3,8; pH_{H₂O} 3,7; tổng N 0,132%; tổng P₂O₅ 0,032%; tổng cacbon hữu cơ 4,07%; tổng Se 0,31 mg/kg; và tổng Cu 5,1 mg/kg. Quy trình xác định các đặc tính của đất theo phương pháp của Bao (2000).

2.2 Thí nghiệm

Liều lượng ZM và hóa chất cho vào các mẫu đất trong nghiên cứu lần lượt là: 0, 50 và 200 mg/kg đất đối với Cu (được thêm vào dưới dạng CuSO₄.5H₂O) (Hu và cs., 2014); 0, 10 và 20 g/kg đất đối với ZM; và 0 và 2,5 mg/kg đất đối với Se (được bổ sung dưới dạng Na₂SeO₃). Một mẫu trắng không có ZM, Cu và Se được chuẩn bị làm nghiệm thức đối chứng. Thí nghiệm này được thiết kế hoàn toàn ngẫu nhiên với ba lần lặp lại, bao gồm tổng số 54 chậu cho 18 nghiệm thức (Bảng 1). Chậu nhựa (đường kính: 18 cm; chiều cao: 15 cm) chứa 2,5 kg đất.

Bảng 1 Thí nghiệm đơn và kết hợp giữa đồng, selen và thân ngô khô

Thí nghiệm thức	Nồng độ			Thí nghiệm thức	Nồng độ			Thí nghiệm thức	Nồng độ		
	Cu	Se	ZM		Cu	Se	ZM		Cu	Se	Z M
Cu0Se0ZM 0	0	0	0	Cu50Se0 ZM0	50	0	0	Cu200Se0Z M0	200	0	0
Cu0Se0ZM 10	0	0	10	Cu50Se0 ZM10	50	0	10	Cu200Se0Z M10	200	0	10
Cu0Se0ZM 20	0	0	20	Cu50Se0 ZM20	50	0	20	Cu200Se0Z M20	200	0	20
Cu0Se2.5Z M0	0	2.5	0	Cu50Se2. 5ZM0	50	2.5	0	Cu200Se2.5 ZM0	200	2.5	0
Cu0Se2.5Z M10	0	2.5	10	Cu50Se2. 5ZM10	50	2.5	10	Cu200Se2.5 ZM10	200	2.5	10
Cu0Se2.5Z M20	0	2.5	20	Cu50Se2. 5ZM20	50	2.5	20	Cu200Se2.5 ZM20	200	2.5	20

Chú thích: * Cu (mg/kg); Se (mg/kg); ZM (g/kg).

Dung dịch có Se hoặc Cu được thêm vào đất khô bằng cách sử dụng bình phun sương bằng nhựa. Sau khi đất được đồng nhất và cân bằng trong 30 ngày, tiến hành bón phân gồm 0,15 g/kg N (urê, AR) và 0,033 g/kg P (monopotassium phosphate, AR). Độ ẩm của đất được giữ ở mức khoảng 70%. Hạt giống cây cải thìa được gieo vào mỗi chậu và sau 10 ngày nảy mầm, cây con được tỉa mỏng thành năm cây trong mỗi chậu. Cây được trồng trong chậu, đặt trong nhà kính và tưới nước định kỳ để giữ độ ẩm của đất ở 70%. Cây được thu hoạch sau 38 ngày.

2.3 Chuẩn bị mẫu

Mẫu đất được thu thập từ mỗi chậu trước khi trồng và sau khi thu hoạch. Sau đó, các mẫu đất

được đặt trong các túi polyetylen kín để tránh ô nhiễm chéo, được làm khô hoàn toàn ở nhiệt độ phòng, và đồng nhất qua sàng 0,15 mm để phân tích tổng nồng độ và phân đoạn Cu. Các mẫu cây cải thìa được rửa kỹ bằng nước khử ion, sau đó tách thân và rễ của chúng ra. Các mẫu được làm khô bằng tủ sấy ở 90 °C trong 30 phút và giữ trọng lượng không đổi ở 50 °C. Các mẫu khô được nghiền thành bột mịn và sau đó được bảo quản trong phòng tối ở nhiệt độ phòng.

2.4 Phương pháp phân tích

2.4.1 Xác định nồng độ Cu trong cây cải thìa và đất

Các mẫu thực vật được phân tích bằng hỗn hợp axit HNO₃-HClO₄ tỉ lệ 4:1 (v/v), trong khi các

mẫu đất được phân tích bằng hỗn hợp axit HNO_3 – HClO_4 tỉ lệ 3:1 (v/v) ở 160 °C. Mẫu được cân chính xác 0,5 g và cho vào trong ống thủy tinh 100 mL; thêm HNO_3 và HClO_4 với thể tích tổng là 10 mL và giữ qua đêm ở nhiệt độ phòng. Axit được phân hủy trong lò nung và điều chỉnh nhiệt độ tự động cho đến khi dung dịch phân hủy và trở nên trong. Sau khi phân hủy bằng axit, dung dịch mẫu được làm nguội và pha loãng bằng nước khử ion. Nồng độ Cu trong dung dịch được xác định bằng máy quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS) theo tiêu chuẩn TCVN 6496: 2009 do Bộ Tài nguyên và Môi trường xây dựng.

2.4.2 Xác định phân đoạn Cu trong đất

Phân tích phân đoạn Cu bằng phương pháp chiết xuất tuần tự năm bước (Hu và cs., 2014). Theo phương pháp này, Cu được chia thành năm phân đoạn, bao gồm: Trao đổi, liên kết với cacbonat, liên kết với các chất oxy hóa Fe-Mn, liên kết với OM, và phân dư.

(a) Trao đổi (EXC-Cu): 0.1 mol L⁻¹ NH_4HAC 25 °C, lắc trong 2 giờ, dung dịch/đất = 10:1;

(b) Liên kết với cacbonat (CAB-Cu): 1 mol L⁻¹ NaAc 25 °C, lắc trong 2 giờ, dung dịch/đất = 10:1;

(c) Liên kết với các chất oxy hóa Fe – Mn (FEM-Cu): 0.1 mol L⁻¹ NH_2OH + 0.01 mol L⁻¹ HCl 25 °C, lắc trong 0.5 giờ, dung dịch/đất = 10:1;

(d) Liên kết với OM (OM-Cu): 0.01 mol L⁻¹ HNO_3 , 30% H_2O_2 đun nóng trong 2 giờ ở 85 °C, lắc liên tục, dung dịch/đất = 10:1;

(e) Phần dư (RES-Cu): 15 mL của HNO_3 , 5 mL của HF , 5 mL của HClO_4 , đun nóng ở 300 °C trong 2 giờ, cho đến khi dung dịch trở nên trong. Phần chiết xuất nổi phía trên được phân tích bằng máy AAS.

2.5 Phân tích thống kê

Phân tích thống kê bằng phần mềm SPSS 20.0. Tất cả các kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn của ba lần lặp lại.

Nghiên cứu này đã sử dụng phương pháp thống kê ANOVA một chiều (Dunnnett's test). Đối với tất cả các kết quả, $P < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê.

3. KẾT QUẢ

3.1 Ảnh hưởng của ZM kết hợp với Se đối với sự phát triển của cây cải thìa

Sự ảnh hưởng của ZM kết hợp với Se đến sự phát triển của cây cải thìa được thể hiện trong Hình 1. Ở các nghiệm thức Cu có nồng độ 50 mg/kg, khối lượng khô của thân và rễ cây cải thìa tăng khoảng 16,8% và 16,7% so với nghiệm thức đối chứng. Ngược lại, ở các nghiệm thức Cu có nồng độ 200 mg/kg, khối lượng khô của thân và rễ giảm 28,6% và 27,1% so với các nghiệm thức Cu có nồng độ 50 mg/kg. Các kết quả này cho thấy nồng độ Cu vượt quá tiêu chuẩn đã kìm hãm sự phát triển của cây cải thìa.

Đối với các nghiệm thức Cu kết hợp với ZM, khối lượng khô của thân và rễ cây cải thìa tăng không đáng kể 1,4% - 5,3% và 2,1% - 18,0% khi thêm ZM 10 và 20 g/kg so với các nghiệm thức chỉ có Cu ($P > 0,05$). Tuy nhiên, đối với nghiệm thức thêm ZM ở hàm lượng cao (20 g/kg), khối lượng khô của rễ tăng đáng kể, lên đến 7,14% - 28,0% ($P < 0,05$) so với nghiệm thức không thêm ZM. Tương tự, đối với nghiệm thức Cu-ZM kết hợp với Se, khối lượng khô của rễ tăng đáng kể (6,7% - 23,3%, $P < 0,05$) ở nồng độ 50 mg/kg Cu và 2,5 mg/kg Se, đặc biệt là nghiệm thức có ZM với hàm lượng cao (20 g/kg). Tuy nhiên, khối lượng khô của thân và rễ không tăng đáng kể ($P > 0,05$) ở nồng độ Cu vượt chuẩn (200 mg/kg) của nghiệm thức Cu-ZM kết hợp với Se so với các nghiệm thức Cu-Se. Những kết quả này đã cho thấy bổ sung Se trong các nghiệm thức Cu-ZM đã tăng cường sự phát triển của cây cải thìa.

3.2 Ảnh hưởng của ZM kết hợp với Se đến sinh khả dụng của Cu trong đất

Nồng độ Cu trong cây cải thìa ở các nghiệm thức khác nhau được thể hiện trong Hình 2. Nồng độ

Cu trong thân và rễ lần lượt là 7,2 và 25,6 mg/kg ở nghiệm thức đối chứng và đạt lần lượt là 42,2 và 284,3 mg/kg sau khi thêm Cu có nồng độ 200 mg/kg Cu (tức là gấp 5,9 lần và 11,1 lần so với nghiệm thức đối chứng).

Đối với nghiệm thức Cu kết hợp với ZM, đối với hàm lượng ZM thấp ở 10 g/kg và nồng độ Cu thấp ở 50 mg/kg, nồng độ Cu trong thân và rễ của cây cải thìa tăng đột ngột ($P < 0,05$) lần lượt là 22,3% và 56,8%, so với các nghiệm thức Cu đơn. Tuy nhiên, với các nghiệm thức hàm lượng ZM cao ở 20 g/kg và nồng độ Cu thấp ở 50 mg/kg, nồng độ Cu trong thân và rễ của cây cải thìa không giảm đáng kể ($P > 0,05$) lần lượt là 8,7% và 11,2% so với các nghiệm thức Cu đơn. Đối với các nghiệm thức được thêm Cu và ZM ở nồng độ Cu cao (200 mg/kg), nồng độ Cu trong thân và rễ của cây cải thìa giảm đáng kể ($P < 0,05$); cho thấy rằng ZM được thêm vào làm giảm khả năng hấp thụ Cu của cây trồng.

Tương tự, với các nghiệm thức Cu-ZM kết hợp với Se, đối với nồng độ Cu thấp ở 50 mg/kg và hàm lượng ZM thấp ở 10 g/kg, nồng độ Cu trong thân và rễ của cây cải thìa tăng đáng kể ($P < 0,05$) lên đến 21,3% và 30,8%. Ngược lại, đối với các nghiệm thức ở hàm lượng ZM cao ở 20 g/kg, nồng độ Cu trong thân và rễ của cây cải thìa không giảm đáng kể ($P > 0,05$) so với các nghiệm thức Cu kết hợp với Se. Đặc biệt, đối với các nghiệm thức ở nồng độ Cu cao 200 mg/kg và hàm lượng ZM cao 20 g/kg, nồng độ Cu trong thân và rễ của cây cải thìa giảm đáng kể ($P < 0,05$) từ 31,6% và 34,8%, so với các nghiệm thức Cu kết hợp với Se. Kết luận này cho thấy rằng sự kết hợp của ZM và Se có thể ức chế đáng kể khả năng hấp thụ Cu trong đất.

3.3 Các thay đổi về sự phân bố các phân đoạn Cu đối với sự thêm vào ZM kết hợp với Se

Sự phân bố của các phân đoạn Cu trong đất với các nghiệm thức khác nhau ZM kết hợp với Se được trình bày trong Hình 3. Các phân đoạn Cu

được sắp xếp theo các mức di động giảm dần, cụ thể là EXC-Cu, CAB-Cu, FEM-Cu, OM-Cu và RES-Cu.

Trước khi trồng, Cu chủ yếu tồn tại trong các phân đoạn FEM-Cu (36,1%) và RES-Cu (37,1%) trong đất tự nhiên (đối chứng). Phân đoạn cố định khác (OM-Cu) cũng chiếm 12,7% tổng lượng Cu trong đất, trong khi phân đoạn di động khá thấp (5,3% đối với EXC-Cu và 8,8% đối với CAB-Cu). Khi bổ sung Cu vào đất, tỷ lệ các phân đoạn EXC-Cu và CAB-Cu lần lượt tăng là 32,1% và 17,0% ở các nghiệm thức có nồng độ Cu thấp (50 mg/kg); trong khi tăng đáng kể từ 2,5 lần đến xấp xỉ 2,3 lần ở các nghiệm thức có nồng độ Cu cao (200 mg/kg), so với nghiệm thức đối chứng. Ngược lại, sự giảm đáng kể phân đoạn RES-Cu (19,6%) được quan sát thấy; trong khi đó, tỷ lệ phân FEM-Cu vẫn chiếm ưu thế trong đất (38,3%) ở các nghiệm thức có nồng độ mức Cu cao (200 mg/kg). Khi đất được thêm đồng thời Cu và ZM, đối với các nghiệm thức ở hàm lượng ZM thấp (10 g/kg), tỷ lệ phân đoạn OM-Cu và RES-Cu tăng lên lần lượt là 17,3% - 97,7% và 3,8% - 29,1%, so với các nghiệm thức không thêm ZM. Đối với các nghiệm thức ở hàm lượng thân ngô khô cao (20 g/kg), tỷ lệ phân đoạn OM-Cu và RES-Cu tăng lên rõ rệt lần lượt 50,4% - 234,1% và 17,5% - 56,1%, khi so với các nghiệm thức không bổ sung ZM. Ngược lại, khi so sánh với nghiệm thức chỉ có Cu thì tỷ lệ các phân đoạn EXC-Cu, CAB-Cu và FEM-Cu giảm xuống lần lượt là 7,5% - 58,5%, 13,6% - 57,1% và 3,6% - 41,9%. Những kết quả này cho thấy ZM tăng cường liên kết Cu trong đất. Đối với các nghiệm thức ZM kết hợp với Se, sự phân bố của các phân đoạn Cu cũng thay đổi theo xu hướng tương tự. Tỷ lệ phân đoạn OM-Cu và RES-Cu tăng lên rõ rệt lần lượt là 24,5% - 187,0% và 4,5% - 59,0%, tỷ lệ của EXC-Cu, CAB-Cu và FEM-Cu giảm xuống 23,3% - 55,8%; 21,1% - 52,8%, và 10,9% - 44,8% tương ứng so với các nghiệm thức Cu-

Se. Những kết quả này chỉ ra rằng bổ sung đồng thời ZM và Se có thể ức chế sự tích tụ Cu.

Sau khi thu hoạch, Cu có xu hướng chuyển thành các phân đoạn FEM-Cu, OM-Cu và RES-Cu ở tất cả các nghiệm thức. So với các nghiệm thức trước khi trồng, tỷ lệ các phân đoạn FEM-Cu, OM-Cu và RES-Cu lần lượt tăng 3,9% - 21,1%; 1,3% - 24,1% và 9,6% - 69,4%; trong khi tỷ lệ các phân đoạn EXC-Cu và CAB-Cu giảm đáng kể xuống lần lượt là 67,4% - 73,7% và 68,2% - 75,0%; cho

thấy rằng Cu trở nên ít di động hơn theo thời gian và khả dụng sinh học của nó trong đất cũng giảm đáng kể.

3.4 Mối tương quan giữa phân đoạn Cu trong đất với sự hấp thụ Cu và sự phát triển của cây cải thìa

Để xem xét sự thay đổi các phân đoạn Cu đến sinh khả dụng của Cu trong đất và sự tăng trưởng của cây cải thìa, nghiên cứu đã phân tích mối tương quan giữa chúng (Bảng 2).

Bảng 2 Tương quan giữa các phân đoạn Cu trong đất với nồng độ Cu trong cây và sự tăng trưởng của cây

Hệ số tương quan	Trước khi trồng				
	EXC-Cu	CAB-Cu	FEM-Cu	OM-Cu	RES-Cu
Cu (rễ)	0.517*	0.537*	0.170	-0.019	-0.668**
Cu (thân)	0.425	0.435	0.323	-0.030	-0.739**
DW (rễ)	-0.802**	-0.781**	-0.416	0.651**	0.544*
DW (thân)	-0.623**	-0.614**	-0.315	0.431	0.493*
Hệ số tương quan	Sau khi thu hoạch				
	EXC-Cu	CAB-Cu	FEM-Cu	OM-Cu	RES-Cu
Cu (rễ)	0.486*	0.511*	0.212	0.094	-0.573*
Cu (thân)	0.403	0.408	0.348	0.063	-0.701**
DW (rễ)	-0.808**	-0.786**	-0.519*	0.576*	0.342
DW (thân)	-0.611**	-0.619**	-0.380	0.286	0.416

Chú thích: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, $n = 18$.

Cu (thân): nồng độ Cu trong thân; Cu (rễ): nồng độ Cu trong rễ; DW (thân): khối lượng khô của thân; DW (rễ): khối lượng khô của rễ.

Đối với các nghiệm thức trước khi trồng, kết quả cho thấy sự hấp thụ Cu của rễ tương quan thuận có ý nghĩa với các phân đoạn EXC-Cu và CAB-Cu ($R^2 > 0,5$; $P < 0,05$); trong khi tương quan nghịch có ý nghĩa với các phân đoạn RES-Cu (R^2

$> 0,65$; $P < 0,01$), và không có mối tương quan đối với các phân đoạn OM-Cu và FEM-Cu ($P > 0,05$). Điều tương tự cũng được quan sát thấy đối với các nghiệm thức sau thu hoạch, tuy nhiên, các mối tương quan này giảm ít hơn (R^2 sau thu hoạch <

R^2 trước khi trồng). Phân tích này chỉ xảy ra mối tương quan đối với các phân đoạn di động, chẳng hạn như phân đoạn EXC-Cu và CAB-Cu, vì tính khả dụng cao và cây trồng dễ hấp thụ. Trong khi đó, các phân đoạn bán di động có tính khả dụng thấp hơn, chẳng hạn như các phân đoạn FEM-Cu và OM-Cu, cho thấy không có mối tương quan nào, bởi vì chúng hầu như chỉ tồn tại trong đất. Hơn nữa, sự thay đổi tỷ lệ của các phân đoạn FEM-Cu và OM-Cu cũng bị ảnh hưởng bởi hàm lượng OM, độ pH, khoáng sét trong đất. Đối với sự tăng trưởng của cây cải thìa, kết quả cho thấy khối lượng khô của thân và rễ cải thìa tương quan thuận có ý nghĩa với các phân đoạn OM-Cu và RES-Cu ($R^2 > 0,45$; $P < 0,05$; ngoại trừ khối lượng khô thân với phân đoạn OM-Cu); trong khi tương quan nghịch có ý nghĩa với các phân đoạn EXC-Cu và CAB-Cu ($R^2 > 0,5$; $P < 0,01$) đối với các nghiệm thức trước khi trồng. Tuy nhiên, sau khi thu hoạch, mối tương quan này giảm ít hơn. Kết quả của phân tích tương quan cho thấy rằng tỷ lệ các phân đoạn Cu giữa trước khi trồng và sau khi thu hoạch có thể dự đoán khả năng hấp thụ Cu của cây cải thìa và sự tăng trưởng của cây.

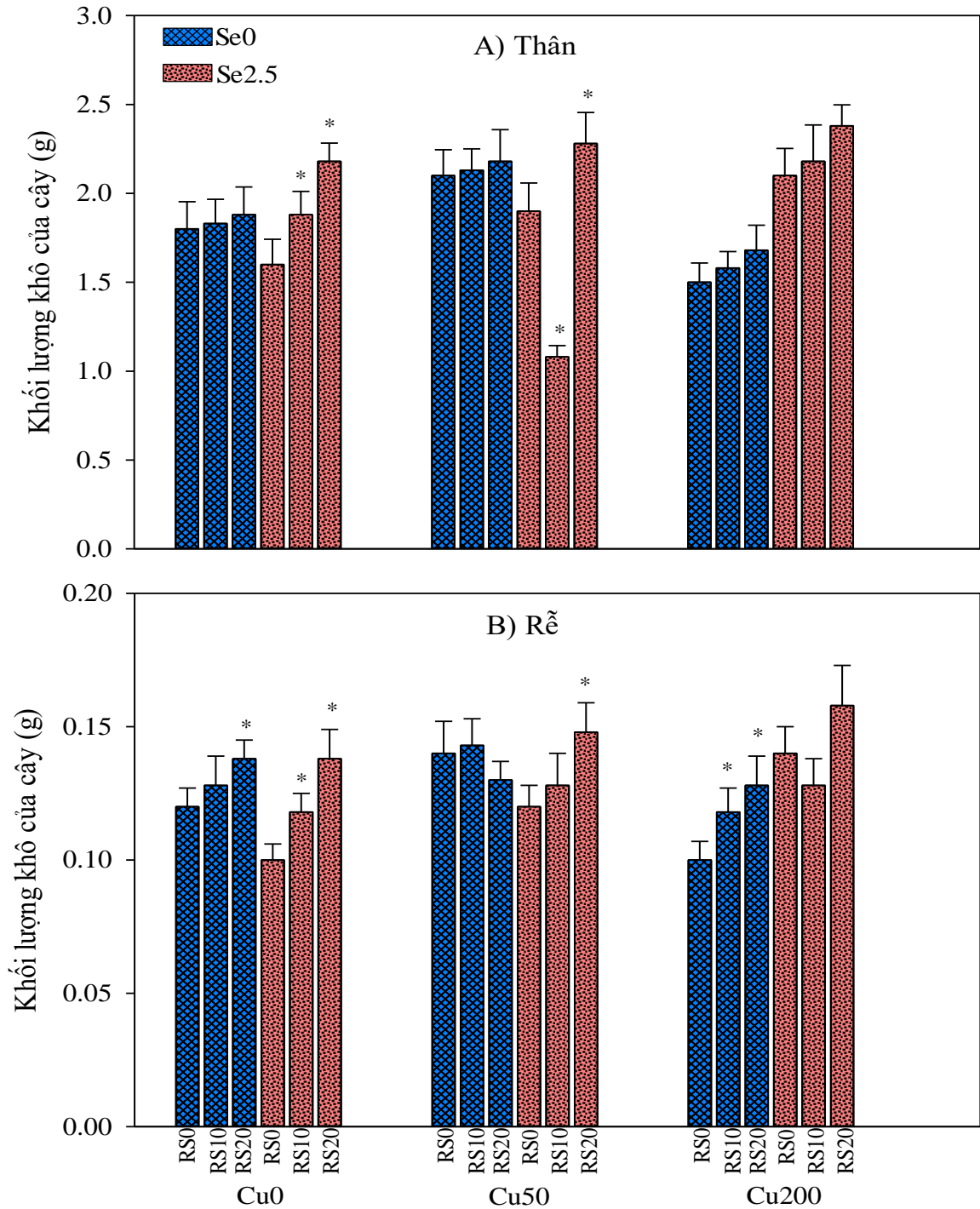
4. THẢO LUẬN

Khả dụng sinh học và tính di động của Cu trong đất bị ảnh hưởng bởi hàm lượng OM, pH, khoáng sét, oxit kim loại và các yếu tố khác (Zhao, Moore, Lombi và Zhu, 2014; Adrees và cs., 2015; Printz, Lutts, Hausman và Sergeants, 2016).

4.1 Ảnh hưởng của việc thêm Cu với các nồng độ khác nhau đến khả dụng sinh học của Cu trong đất

Trong nghiên cứu này, đất thí nghiệm là đất thịt pha sét bao gồm các khoáng chất phyllosilicat giàu silic, nhôm oxit và hydroxit (phần Vật liệu và phương pháp). Cu thông thường không tồn tại

dưới dạng ion trong đất, hầu hết nó bị hấp thụ bởi các oxit sắt và nhôm ở dạng Cu^{2+} -O- Fe^{3+} hoặc Cu-O-Al (Banuelos và Lin, 2005), dẫn đến làm giảm tính linh động của nó. Hơn nữa, theo nguyên tắc của axit-bazơ cứng và mềm, các kim loại như Cu, Co, Ni, Al, Cd và Zn có khả năng liên kết mạnh với phối tử cứng (nhóm chức chứa O). Do đó, các phần của Cu trong đất tự nhiên chủ yếu là các phần FEM-Cu (36,1%) và RES-Cu (37,1%). Tuy nhiên, khi thêm Cu vào trong đất, Cu có xu hướng tăng tính di động. Ở nồng độ Cu thêm vào thấp (50 mg/kg), tỷ lệ các phân đoạn EXC-Cu và CAB-Cu lần lượt tăng 32,1% và 17,0% so với nghiệm thức đối chứng (Hình 3). Do đó, cải thìa tăng cường hấp thụ Cu làm chất dinh dưỡng để hỗ trợ tăng trưởng; khối lượng khô của thân và rễ cây cải thìa tăng lần lượt là 16,8% và 16,7% so với nghiệm thức đối chứng (Hình 1). Kết quả này hoàn toàn phù hợp với kết luận của Feng và cs. (2018) ở thí nghiệm thủy canh với nồng độ Cu thấp (50 - 100 μM). Ở nồng độ Cu thêm vào cao (200 mg/kg), tỷ lệ các phân đoạn EXC-Cu và CAB-Cu tăng đáng kể từ 2,5 lần đến xấp xỉ 2,3 lần so với nghiệm thức đối chứng (Hình 3). Trong khi đó, phân đoạn RES-Cu giảm đáng kể (19,6%) (Hình 3). Nồng độ Cu trong thân và rễ cây cải thìa cũng tăng lên lần lượt là 5,9 và 11,1 lần khi hàm lượng Cu là 200 mg/kg so với nghiệm thức đối chứng (Hình 2). Hiện tượng này làm cho khối lượng khô thân và rễ của cây cải thìa lần lượt giảm 28,6% và 27,1% so với nghiệm thức Cu ở nồng độ 50 mg/kg (Hình 1). Tuy nhiên, tỷ lệ phân đoạn FEM-Cu vẫn chiếm ưu thế trong đất (38,3%) ở nồng độ Cu cao (200 mg/kg) (Hình 3). Các kết quả tương tự cũng đã thu được trong các nghiên cứu khác. Ví dụ, Luo và cs. (2003) nhận thấy rằng phân đoạn Fe-Mn oxy hóa chiếm ưu thế trong đất ô nhiễm Cu, trong khi phân đoạn Cu dư chiếm ưu thế trong đất không bị ô nhiễm.



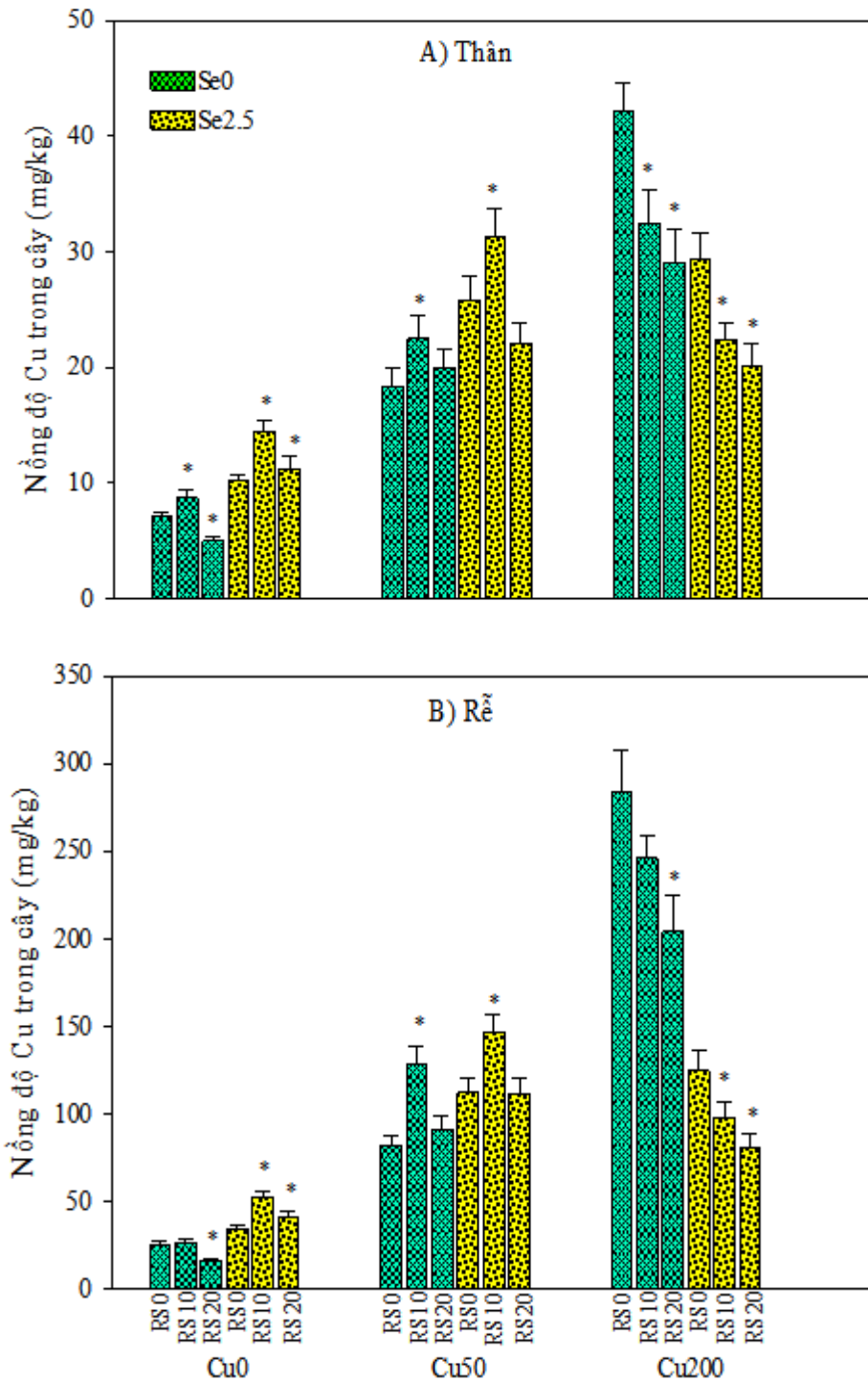
Hình 1 Khối lượng khô của cây cải thìa: thân (A), rễ (B). Kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn của ba lần lặp lại. Ngôi sao biểu hiện cho sự khác nhau của các kết quả có ý nghĩa thống kê của các nghiệm thức có thân ngô khô đối với nghiệm thức không có thân ngô khô (phương pháp thống kê ANOVA một chiều, Dunnett's test, * $P < 0.05$).

4.2 Ảnh hưởng của nghiệm thức đồng thời Cu-ZM và Se đến sinh khả dụng của Cu trong đất

Hàm lượng chất hữu cơ trong đất đóng vai trò rất quan trọng đối với tính di động của Cu trong đất bởi ái lực mạnh với Cu (Bravin và cs., 2009; Li và cs., 2013; Laurent và cs., 2020). Một mặt, OM có thể tăng cường sự tạo phức thông qua hấp thụ và kết tủa các kim loại vi lượng trong đất và do đó làm giảm tính di động của chúng (Warne và cs., 2008). Mặt khác, nó có thể làm giàu chất hữu cơ trong dung dịch đất, dẫn đến kết hợp và tăng cường khả dụng sinh học của các kim loại vi lượng (Zhao và cs., 2015). Trong khi đó, đối với nghiệm thức đồng thời thêm Cu và ZM, nồng độ Cu trong cây cải thìa tăng đột ngột ($P < 0,05$) với hàm lượng ZM thấp ở 10 g/kg và nồng độ Cu ở 50 mg/kg (Hình 2). Ở hàm lượng ZM thấp (10 g/kg), việc thêm ZM thường điều chỉnh sự hấp thụ Cu (dưới dạng chất dinh dưỡng) bằng cách làm tăng dịch tiết từ rễ, dẫn đến tăng các phối tử hữu cơ nhỏ trong rễ (Tao và cs., 2003; Qin và cs., 2004; Krumins và cs., 2015), do đó tạo điều kiện tăng cường nồng độ Cu bởi tăng phân đoạn OM-Cu. Thật vậy, tỷ lệ phân đoạn OM-Cu tăng lên 17,3% – 97,7%; so với các nghiệm thức không có ZM (Hình 3). ZM có thể đã được vi sinh vật phân hủy thành một số vật liệu hữu cơ thông qua quá trình tiêu hóa, các vật liệu vi sinh này có thể kết hợp với ion Cu trong đất và làm tăng nồng độ Cu di động trong đất (J. B. Christensen, Jensen & T. H. Christensen, 1996).

Tuy nhiên, tính di động và sinh khả dụng của Cu bị giảm khi hàm lượng OM cao (Beesley,

Moreno-Jiménez & Gomez-Eyles, 2010). Kết luận này là do ái lực cao của OM đối với Cu trong đất (Vlček và Pohanka, 2018), dẫn đến tạo phức rất mạnh với Cu (Araújo, Strawn, Morra, Moore và Ferracciú Alleoni, 2019; Conde-Cid, Santás-Miguel, Campillo-Cora, Pérez-Novo và Fernández-Calviño, 2019). Theo đó, phức hợp OM-Cu là dạng chiếm ưu thế nhất, và tỷ lệ các phân đoạn OM-Cu tăng lên rõ rệt lên đến 50,4% - 234,1%; so với các nghiệm thức ZM ở hàm lượng cao (20 g/kg) (Hình 3). Một số nghiên cứu cũng đã báo cáo rằng khoảng > 90% tổng lượng Cu trong đất được tìm thấy ở dạng OM-Cu tùy vào nồng độ Cu trong đất ô nhiễm Cu (Rutkowska, Szulc & Bomze, 2013). Theo đó, nồng độ Cu trong thân và rễ của cây cải thìa lần lượt tăng 22,3% và 56,8% ở các nghiệm thức có nồng độ Cu thấp (50 mg/kg); và chúng giảm đáng kể ($P < 0,05$) ở các nghiệm thức có nồng độ Cu cao (200 mg/kg) (Hình 2). Như vậy, khối lượng khô của rễ cây cải thìa lần lượt tăng 7,14%–28,0% đối với các nghiệm thức với ZM ở hàm lượng cao (20 g/kg) (Hình 1). Đối với các nghiệm thức Cu-ZM kết hợp đồng thời với Se, các hợp chất Cu-Se có thể kết hợp với OM hòa tan trong đất và sau đó tạo thành phức hợp Cu-Se lớn làm giảm bớt khả dụng sinh học của Cu trong đất (Chiasson-Gould, Blais & Poulain, 2014), dẫn đến tỷ lệ các phân đoạn OM-Cu và RES-Cu tăng lên rõ rệt lần lượt là 24,5% - 187,0% và 4,5% - 59,0%; so với các nghiệm thức Cu-Se (Hình 3). Nồng độ Cu trong thân và rễ cây cải thìa giảm đáng kể ($P < 0,05$) 31,6% và 34,8% trong đất ở các nghiệm thức nồng độ Cu ở 200 mg/kg và hàm lượng ZM ở 20 g/kg (Hình 2).

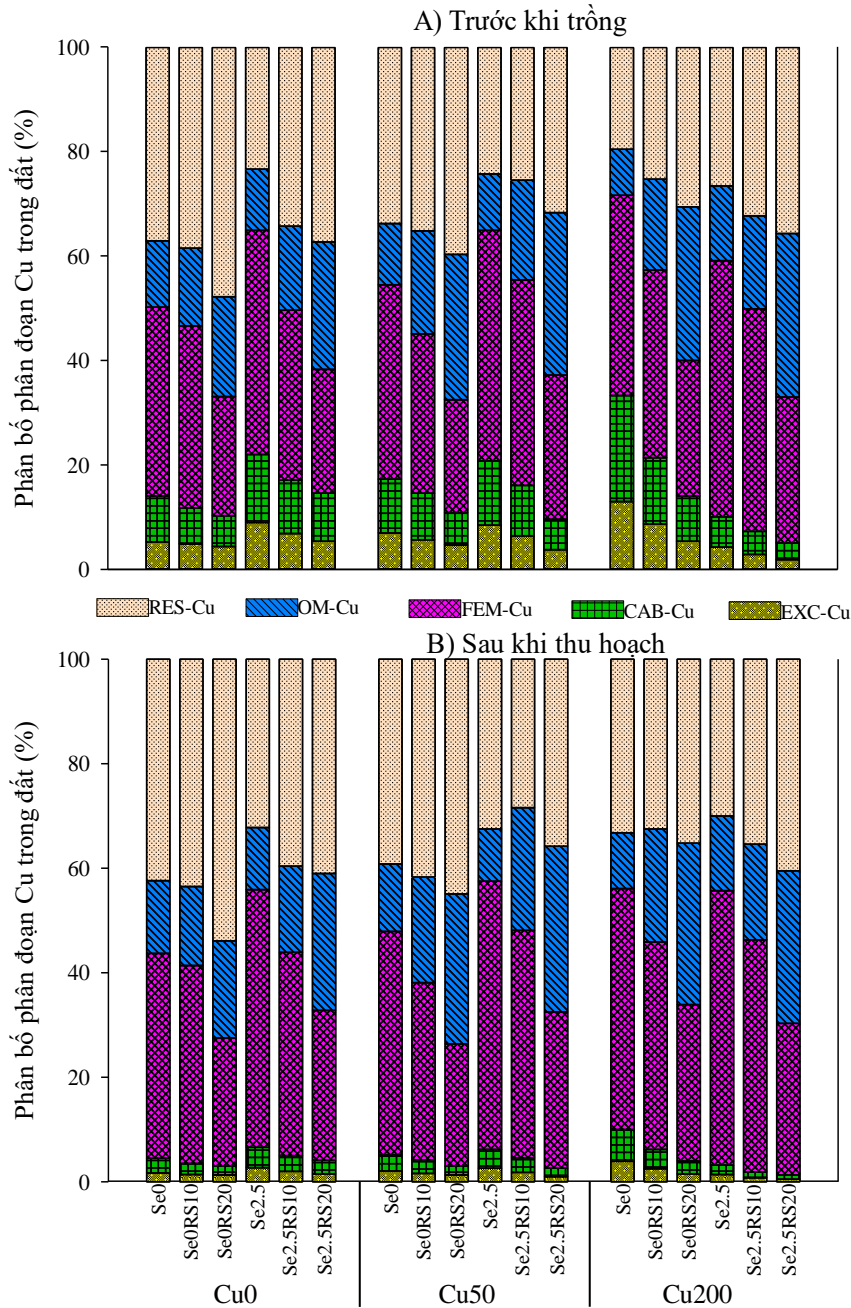


Hình 2 Nồng độ Cu trong cây cải thìa: thân (A), rễ (B). Kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn của ba lần lặp lại. Ngôi sao biểu hiện cho sự khác nhau của các kết quả có ý nghĩa thống kê của các nghiệm thức có thân ngô khô đối với nghiệm thức không có thân ngô khô (phương pháp thống kê ANOVA một chiều, Dunnett's test, * $P < 0.05$).

4.3 Ảnh hưởng của sự lão hóa theo thời gian đến sinh khả dụng của Cu trong đất

Sau khi thu hoạch, sự phân bố của các phân đoạn Cu trong đất thay đổi tương tự như trường hợp trước khi trồng. Tuy nhiên, ở các nghiệm thức

Cu-ZM kết hợp đồng thời với Se, Cu có xu hướng chuyển thành các phân đoạn FEM-Cu, OM-Cu và RES-Cu với tỷ lệ FEM-Cu, OM-Cu và RES-Cu nhiều hơn, với sự tăng lên 3,9% - 21,1%; 1,3% - 24,1% và 9,6% - 69,4%; tương ứng, so với các nghiệm thức trước khi trồng (Hình 3).



Hình 3 Phân bố các phân đoạn Cu trong đất trước khi trồng (A) và sau khi thu hoạch (B).

Phát hiện này hoàn toàn phù hợp với kết luận trước đó, khẳng định rằng Cu có thể chuyển đổi từ các phân đoạn có thể trao đổi thành các phân đoạn ổn định theo thời gian (Lu, Zhang, Qin, Wu & Liu, 2009). Cụ thể, các kim loại nặng thêm vào các phân đoạn di động và bán di động có thể bị hòa tan theo thời gian, giải phóng các ion Cu^{2+} và tăng các ion Cu^{2+} tự do trong đất (Chopin và Alloway, 2007). Các ion Cu^{2+} tự do này có xu hướng kết hợp với các phân đoạn cố định bằng ái lực liên kết mạnh với S^{2-} , dẫn đến tăng các phân đoạn RES-Cu (Hình 3). Sự thêm vào của ZM cũng làm tăng hàm lượng OM ở đất gần rễ theo thời gian, hình thành phức hợp Cu và ức chế khả năng di chuyển và sinh khả dụng của Cu, dẫn đến tăng tỷ lệ phân đoạn OM-Cu (Bloom & Preus, 2003; Reis, Rodrigues, Davidson, Pereira & Duarte, 2010; Reis, Davidson, Vale & Pereira, 2016) (Hình 3). Hơn nữa, với đất có độ pH thấp, thực vật tiết ra các khối hữu cơ theo thời gian để phát triển (Chaignon, Quesnoit & Hinsinger, 2009; Cui, Luo, Tang, Chan & Li, 2017). Với việc bổ sung ZM trong đất, màng bám Fe trên biểu bì được cô lập, tỷ lệ phân đoạn FEM-Cu tăng lên (Feng và cs., 2018) (Hình 3) và vành đai hóa sinh học được tạo ra trên biểu bì rễ (Medas và cs., 2015) làm giảm độ linh động của Cu. Do đó, tính di động của Cu trong đất giảm sau khi thu hoạch và sự hấp thụ Cu bị hạn chế ở thực vật.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá ảnh hưởng của việc áp dụng ZM kết hợp với Se đối với sinh khả dụng của Cu trong đất. Kết quả cho thấy rằng ZM kết hợp với Se đóng vai trò quan trọng trong việc giảm hấp thụ Cu lên cây cải thìa ở điều kiện nồng độ Cu vượt quy chuẩn cho phép (200 mg/kg) thông qua việc biến đổi các phân đoạn Cu di động thành các phân đoạn Cu cố định trong đất. Đáng chú ý, sự giảm hấp thụ này xảy

hấp phụ trên bề mặt của đất ở dạng rắn có thể trao đổi nhanh chóng và xâm nhập vào môi trường đất, sau đó từ từ chuyển thành các dạng ổn định khác theo thời gian (Jalali và Khanlari, 2008). Độ pH của đất thí nghiệm rất thấp, chỉ đạt 3,7; do đó, ra đáng kể chỉ khi hàm lượng ZM ở mức thích hợp (20 g/kg). Ngược lại, ở nồng độ Cu thấp (50 mg/kg), ZM kết hợp với Se lại làm tăng nồng độ Cu hấp thụ lên cây cải thìa cũng như thúc đẩy sự phát triển của cây cải thìa.

Theo đó, nhóm nghiên cứu đề nghị ngoài Cu nên nghiên cứu thêm các loại kim loại khác trong đất như Zn, Al, Pb, Cd, Hg, Ni... và sử dụng thêm các loại phế phẩm nông nghiệp khác như: bã cà phê, vỏ trái cây... hoặc kết hợp giữa phế phẩm nông nghiệp và các loại phân bón hóa học khác.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Thủ Dầu Một trong đề tài mã số DT.20.1-114.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Adrees, M., Ali, S., Rizwan, M., Ibrahim, M., Abbas, F., Farid, M., ... Bharwana, S. A. (2015). The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(11), 8148–8162.
- Andre C. M., Larondelle Y., Evers, D (2010). Dietary antioxidants and oxidative stress from a human and plant perspective: a review. *Current Nutrition & Food Science*, 6, 2–12.
- Araújo, E., Strawn, D. G., Morra, M., Moore, A., Ferracciú Alleoni, L. R. (2019). Association between extracted copper and dissolved organic matter in dairy-manure amended soils. *Environmental Pollution*, 246, 1020–1026.

- Banuelos, G. S., Lin, Z. Q. (2005). Phytoremediation management of selenium-laden drainage sediments in the San Luis Drain: a greenhouse feasibility study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62, 309–316.
- Bao, S. D. (2000). Method of Soil Chemistry Analysis. *China Agricultural Science and Technology Press*, 373–375.
- Beesley, L., Moreno-Jiménez, E., Gomez-Eyles, J. L. (2010). Effects of biochar and greenwaste compost amendments on mobility, bioavailability and toxicity of inorganic and organic contaminants in a multi-element polluted soil. *Environmental Pollution*, 158, 2282–2287.
- Belimov, A. A., Hontzeas, N., Safronova, V. I., Demchinskaya, S. V., Piluzza, G., Bullitta, S., Glick, B. R. (2005). Cadmium-tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern.). *Soil Biology and Biochemistry*, 37, 241–250.
- Belon, E., Boisson, M., Deportes, I. Z., Eglin, T. K., Feix, I., Bispo, A. O., Galsomies, L., Leblond, S., Guellier, C. R. (2012). An inventory of trace elements inputs to French agricultural soils. *Science of the Total Environment*, 439, 87–95.
- Bloom, N., Preus, E. (2003). *Anoxic sediment incubations to assess the methylation potential of mercury contaminated solids*. Proceedings of the 2nd International Symposium on Contaminated Sediments.
- Bravin, M. N., Tentscher, P., Rose, J., Hinsinger, P. (2009). Rhizosphere pH gradient controls copper availability in a strongly acidic soil. *Environmental Science & Technology*, 43, 5686–5691.
- Bravin, M. N., Garnier, C., Lenoble, V., Gerard, F., Dudal, Y., Hinsinger, P. (2012). Rootinduced changes in pH and dissolved organic matter binding capacity affect copper dynamic speciation in the rhizosphere. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 84, 256–268.
- Chaignon, V., Quesnoit, M., Hinsinger, P. (2009). Copper availability and bioavailability are controlled by rhizosphere pH in rape grown in an acidic Cu-contaminated soil. *Environmental Pollution*, 157(12), 3363–3369.
- Chiasson-Gould, S. A., Blais, J. M., Poulain, A. J. (2014). Dissolved organic matter kinetically controls mercury bioavailability to bacteria. *Environmental Science & Technology*, 48, 3153–3161.
- Chopin, E. I. B., Alloway, B. J. (2007). Distribution and mobility of trace elements in soils and vegetation around the mining and smelting areas of Tharsis, Ríotinto and Huelva, Iberian Pyrite Belt, SW Spain. *Water, Air, & Soil Pollution*, 182, 245–261.
- Christensen, J. B., Jensen, D. L., Christensen, T. H. (1996). Effect of dissolved organic carbon on the mobility of cadmium, nickel and zinc in leachate polluted groundwater. *Water Research*, 30, 3037–3049.
- Conde-Cid, M., Santás-Miguel, V., Campillo-Cora, C., Pérez-Novo, C., Fernández-Calviño, D. (2019). Retention of propiconazole and terbuthryn on acid sandy-loam soils with different organic matter and Cu concentrations. *Journal of Environmental Management*, 248, 109346.
- Cui, J. L., Luo, C. L., Tang, C. W. Y., Chan, T. S., Li, X. D. (2017). Speciation and leaching of trace metal contaminants from e-waste contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials*, 329, 150–158.

- Feng, R. W., Wei, C. Y., Tu, S. X., Ding, Y. Z., Song, Z. G. (2013). A dual role of Se on Cd toxicity: evidences from the uptake of Cd and some essential elements and the growth responses in paddy rice. *Biological Trace Element Research*, 151, 113–121.
- Feng, H., Qian, Y., Cochran, J. K., Zhu, Q., Heilbrun, C., Li, L., Hu, W., Yan, H., Huang, X., Ge, M., Nazareski, E., Chu, Y. S., Yoo, S., Zhang, X., Liu, C. J. (2018). Seasonal differences in trace element concentrations and distribution in *Spartina alterniflora* root tissue. *Chemosphere*, 204, 359–370.
- Grüter, R., Costerousse, B., Mayer, J., Mäder, P., Thonar, C., Frossard, E., Schulin, R., Tandy, S. (2019). Long-term organic matter application reduces cadmium but not zinc concentrations in wheat. *Science of the Total Environment*, 669, 608–620.
- Guan, T. X., He, H. B., Zhang, X. D., Bai, Z. (2011). Cu fractions, mobility and bioavailability in soil-wheat system after Cu-enriched livestock manure applications. *Chemosphere*, 82(2), 215–222.
- Hu, B., Liang, D. L., Liu, J. J., Lei, L. M., Yu, D. S. (2014). Transformation of heavy metal fractions on soil urease and nitrate reductase activities in copper and selenium co-contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 110, 41–48.
- Huang, Z. Y., Xie, H., Cao, Y. L., Cai, C., Zhang, Z. (2014). Assessing of distribution, mobility and bioavailability of exogenous Pb in agricultural soils using isotopic labeling method coupled with BCR approach. *Journal of Hazardous Materials*, 266, 182–188.
- Jalali, M., Khanlari, Z. V. (2008). Effect of aging process on the fractionation of heavy metals in some calcareous soils of Iran. *Geoderma*, 143, 26–40.
- Krumins, J. A., Goodey, N. M., Gallagher, F. (2015). Plant-soil interactions in metal contaminated soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 80, 224–231.
- Laurent, C., Bravin, M. N., Crouzet, O., Pelosi, C., Tillard, E., Lecomte, P., Lamy, I. (2020). Increased soil pH and dissolved organic matter after a decade of organic fertilizer application mitigates copper and zinc availability despite contamination. *Science of The Total Environment*, 709, 135927.
- Li, T., Tao, Q., Liang, C., Shohag, M., Yang, X., Sparks, D. L. (2013). Complexation with dissolved organic matter and mobility control of heavy metals in the rhizosphere of hyperaccumulator *Sedum alfredii*. *Environmental Pollution*, 182, 248–255.
- Lu, A. X., Zhang, S. Z., Qin, X. Y., Wu, W. Y., Liu, H. L. (2009). Aging effect on the mobility and bioavailability of copper in soil. *Journal of Environmental Sciences-China*, 21, 173–178.
- Luo, Y. M., Jiang, X. J., Wu, L. H., Song, W., Wu, S. C., Lu, R. H., Christie, P. (2003). Accumulation and chemical fractionation of Cu in a paddy soil irrigated with Cu-rich wastewater. *Geoderma*, 115, 113–120.
- Makino, T., Takano, H., Kamiya, T., Itou, T., Sekiya, N., Inahara, M., Sakurai, Y. (2008). Restoration of cadmium-contaminated paddy soils by washing with ferric chloride: Cd extraction mechanism and bench-scale verification. *Chemosphere*, 70, 1035–1043.
- Medas, D., De Giudici, G., Casu, M. A., Musu, E., Gianoncelli, A., Iadecola, A., Meneghini, C., Tamburini, E., Sprocati, A. R., Turnau, K., Lattanzi, P. (2015). Microscopic processes ruling the bioavailability of Zn to roots of *Euphorbia pithyusa* L. pioneer plant. *Environmental Science & Technology*, 49(3), 1400–1408.

- Michaud, A. M., Bravin, M. N., Galleguillos, M., Hinsinger, P. (2007). Copper uptake and phytotoxicity as assessed in situ for durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.) cultivated in Cu-contaminated, former vineyard soils. *Plant and Soil*, 298, 99–111.
- Michaud, A. M., Chappellaz, C., Hinsinger, P. (2008). Copper phytotoxicity affects root elongation and iron nutrition in durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.). *Plant and Soil*, 310, 151–165.
- Monterroso, C., Rodríguez, F., Chaves, R., Diez, J., Becerra-Castro, C., Kidd, P. S., Macías, F. (2014). Heavy metal distribution in mine-soils and plants growing in a Pb/Zn-mining area in NW Spain. *Applied Geochemistry*, 44, 3–11.
- Nguyen, T. X. T., Amyot, M., Labrecque, M. (2017). Differential effects of plant root systems on nickel, copper and silver bioavailability in contaminated soil. *Chemosphere*, 168, 131–138.
- Ni, R. X., Ma, Y. B. (2018). Current inventory and changes of the input/output balance of trace elements in farmland across China. *PloS One*, 13(6), 0199460.
- Printz, B., Lutts, S., Hausman, J. F., Sergeants, K. (2016). Copper trafficking in plants and its implication on cell wall dynamics. *Frontiers in Plant Science*, 7.
- Qin, F., Shan, X. Q., Wei, B. (2004). Effects of low-molecular-weight organic acids and residence time on desorption of Cu, Cd, and Pb from soils. *Chemosphere*, 57(4), 253–263.
- Qiu, R., Zhang, J. F., Dong, Z. Q., Feng, H., Lai, L. (2014). Low-temperature thermal desorption of farmland soil contaminated by mercury. *Environmental Science and Technology*, 37, 48–52.
- Rayman, M. P. (2000). The importance of selenium to human health. *The Lancet*, 356, 233–241.
- Reis, A. T., Rodrigues, S. M., Davidson, C. M., Pereira, E., Duarte, A. C. (2010). Extractability and mobility of mercury from agricultural soils surrounding industrial and mining contaminated areas. *Chemosphere*, 81, 1369–1377.
- Reis, A. T., Davidson, C. M., Vale, C., Pereira, E. (2016). Overview and challenges of mercury fractionation and speciation in soils. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 82, 109–117.
- Ren, J. H., Sun, H. H., Wang, S. F., Luo, J., Ma, L. N. Q. (2014). Interactive effects of mercury and arsenic on their uptake, speciation and toxicity in rice seedling. *Chemosphere*, 117, 737–744.
- Rutkowska, B., Szulc, W., Bomze, K. (2013). Effects of soil properties on copper speciation in soil solution. *Journal of Elementology*, 18.
- Sauve, S., Hendershot, W., Allen, H. E. (2000). Solid-solution partitioning of metals in contaminated soils: dependence on pH, total metal burden, and organic matter. *Environmental Science and Technology*, 34, 1125–1131.
- Shahid, M., Pinelli, E., Pourrut, B., Silvestre, J., Dumat, C. (2011). Lead-induced genotoxicity to *Vicia faba* L. roots in relation with metal cell uptake and initial speciation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 78–84.
- Tao, S., Chen, Y. J., Xu, F. L., Cao, J., Li, B. G. (2003). Changes of copper speciation in maize rhizosphere soil. *Environmental Pollution*, 122(3), 447–454.

- Temminghoff, E. J., Van der Zee, S. E., de Haan, F. A. (1997). Copper mobility in a copper contaminated sandy soil as affected by pH and solid and dissolved organic matter. *Environmental Science and Technology*, 31(4), 1109–1115.
- Vlček, V., Pohanka, M. (2018). Adsorption of copper in soil and its dependence on physical and chemical properties. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 66, 219–224.
- Wang, Y. J., Dang, F., Evans, R. D., Zhong, H., Zhao, J. T., Zhou, D. M. (2016). Mechanistic understanding of MeHg-Se antagonism in soil-rice systems: the key role of antagonism in soil. *Scientific Reports-UK*, 6, 19477.
- Wang, Z. Z., Wang, H. B., Wang, H. J., Li, Q. C., Li, Y. (2020). Effect of soil washing on heavy metal removal and soil quality: A two-sided coin. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 203, 110981.
- Warne, M. S. J., Heemsbergen, D., McLaughlin, M., Bell, M., Broos, K., Whatmuff, M., Barry, G., Nash, D., Pritchard, D., Penney, N. (2008). Models for the field-based toxicity of copper and zinc salts to wheat in 11 Australian soils and comparison to laboratory-based models. *Environmental Pollution*, 156, 707–714.
- Zhang, H. (2014). Advances in research on the mechanisms of selenium–mercury interactions and health risk assessment. In: Impacts of selenium on the biogeochemical cycles of mercury in terrestrial ecosystems in mercury mining areas. *Springer, Berlin Heidelberg*, 17–34.
- Zhao, F. J., Moore, K. L., Lombi, E., Zhu, Y. G. (2014). Imaging element distribution and speciation in plant cells. *Trends in Plant Science*, 19(3), 183–192.
- Zhao, K. L., Fu, W. J., Ye, Z. Q., Zhang, C. S. (2015). Contamination and spatial variation of heavy metals in the soil-rice system in Nanxun County, Southeastern China. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12, 1577–1594.