

ẢNH HƯỞNG CỦA GLYPHOSATE ĐẾN CHỨC NĂNG HÔ HẤP VI SINH VẬT ĐẤT

Nguyễn Bình Duy (Viện Khoa Học Kỹ Thuật
Nông Nghiệp Miền Nam, 121 Nguyễn Bình
Khiêm, Phường Đakao, Quận 1, Thành phố Hồ
Chi Minh),

Email: duy.nb@iasvn.org or
nguyenbinhd Duy@yahoo.com, phone: 0938.938.129

ABSTRACT

Multiple applications of the herbicide glyphosate each year are now common in many agricultural systems worldwide. Although a body of literature exists on the impacts of single label rate or high application rates on soil functionality, a paucity of data exists on the more realistic effect of repeated application to soil. This study investigated the effects of repeated glyphosate (as RoundupCT®) application on substrate-induced respiration (SIR) in three contrasting agricultural soils. The influence of soil characteristics in observing effects was highlighted with the light-texture Tenosol showing changes to SIR following RoundupCT® treatment, while the clay Vertosol and loamy Chromosol, showed no significant effects on SIR or function. In the Tenosol, monthly exposure of the soil to label rate doses (2.93 mg kg⁻¹) of RoundupCT® significantly altered patterns of SIR compared to control soil not previously exposed to RoundupCT® by reducing mineralisation of glucose and arabinose.

Keywords: RoundupCT®, Respiration, soil function, MicrorespTM

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Glyphosate là thuốc diệt cỏ được sử dụng phổ biến trên thế giới do chi phí thấp và hiệu quả cao. Việc sử dụng glyphosate đã tăng gần 15 lần kể từ khi nó được giới thiệu vào năm 1996 (Benbrook, 2016). Glyphosate ức chế 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), một loại enzyme tham gia trong chu trình shikimate tổng hợp axit amin được sử dụng bởi nhiều vi khuẩn trong đất (Helander *et al.*, 2012; MC Zabaloy *et al.*, 2008), điều này làm người ta lo

ngại rằng glyphosate có thể ảnh hưởng xấu đến chức năng của vi sinh vật trong đất (Rose *et al.*, 2016).

Chức năng của vi sinh vật trong đất đóng vai trò quan trọng trong việc phân hủy chất hữu cơ, luân chuyển chất dinh dưỡng và ngăn chặn mầm bệnh, và do đó nó có vai trò thiết yếu đối với các hệ thống canh tác bền vững. Một trong các phép đo được áp dụng phổ biến về sự đa dạng chức năng của vi sinh vật trong đất là quá trình hô hấp thông qua một số các chất nền, được xem như các chỉ thị độc tính sinh thái (Nannipieri và cộng sự, 2002). Đánh giá chức năng hô hấp là theo

Người phân biên: GS. TS. Nguyễn Thơ.

đổi quá trình giải phóng CO₂ từ đất sau khi bổ sung một số chất nền cacbon, cho thấy khả năng chuyển hóa các chất hữu cơ trong đất (Konopka *et al.*, 1998). Một phân tích tổng hợp gần đây gồm 30 nghiên cứu cho thấy các liều đơn glyphosate sử dụng ở nồng độ đồng ruộng (<10 mg kg⁻¹) thường ít tác động đến hô hấp của đất (Nguyen B. D. *et al.*, 2016).

Những ảnh hưởng của việc bón glyphosate lặp lại ít được biết đến mặc dù xu hướng sử dụng này ngày càng phổ biến (Benbrook, 2016). Hơn nữa, rất ít những nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của việc sử dụng lặp lại glyphosate trong thời gian dài đối với chức năng vi sinh vật đất.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu thí nghiệm

Nghiên cứu được thực hiện gồm 3 nhóm đất Tenosol, Chromosol và Vertosol, được thu thập trên ba vùng nông nghiệp khác nhau ở Úc, có các đặc điểm vật lý và tính chất hóa học khác nhau (Isbell, 1997). Các mẫu đất được thu thập ở tầng đất mặt (200 mm). Đất được phơi khô không khí và qua sàng (<2,0 mm) trước khi bố trí thí nghiệm.

RoundupCT[®] có chứa 450g L⁻¹ glyphosate được cho vào đất. Dung dịch gốc RoundupCT[®] (1,4g glyphosate L⁻¹) pha với nước khử ion (DI) được cho vào đất đạt được tỷ lệ 2,93 mg glyphosate kg⁻¹ đất cho mỗi lần cung cấp. Điều này tương đương với 2,2 kg glyphosate ha⁻¹, giả sử tỷ trọng khối đất khô là 1,5 g cm⁻³ và độ sâu trung bình của glyphosate có thể thâm nhập vào đất là 50 mm (EEC, 2007; Silva *et al.*, 2018).

2.2. Thiết kế thí nghiệm

Thí nghiệm thực hiện gồm ba loại đất được ủ với RoundupCT[®] (có chứa thành phần hoạt tính glyphosate) ở các mức độ khác nhau trong thời gian 9 tháng. Năm (05) công thức gồm: đối chứng (không cung cấp RoundupCT[®]), bổ sung RoundupCT[®] hàng tháng (10 lần), bổ sung RoundupCT[®] hàng quý (4 lần), bổ sung RoundupCT[®] vào ngày đầu tiên (01 lần) và bổ sung RoundupCT[®] vào ngày cuối cùng (01 lần), mỗi công thức gồm 4 lần lặp lại.

Đất được cho vào các lọ thủy tinh có đường kính 63 mm và cao 80 mm. Đất được lấp đầy đến 50 mm và độ ẩm đất được duy trì ở mức 40% khả năng giữ nước của đất (WHC). Sau đó, dung dịch gốc RoundupCT[®] hoặc nước đã khử ion được thêm vào để đưa đất đến độ ẩm 80% khả năng giữ nước của đất. Kế tiếp, đất được ủ 9 tháng trong phòng tối ở 25°C với một lịch trình cung cấp bổ sung RoundupCT[®] mỗi tháng và mỗi 3 tháng. Độ ẩm của đất được kiểm tra sau mỗi 14 ngày bằng cách cân các lọ thủy tinh có ủ đất để tính toán ra lượng nước cần bổ sung để duy trì độ ẩm của đất ở 80% WHC.

2.3. Đánh giá chức năng hô hấp cộng đồng vi sinh vật sau thời gian 9 tháng

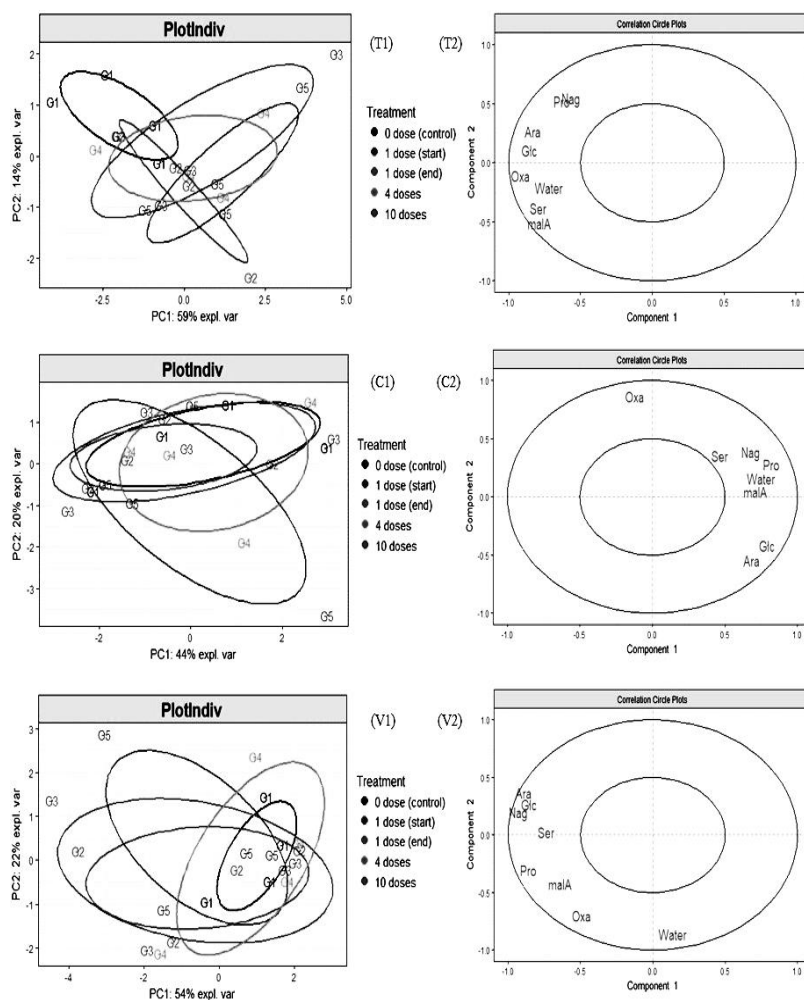
Sau giai đoạn ủ, các mẫu đất được phân tích để đánh giá mức độ hô hấp của vi sinh vật trong đất bằng phương pháp MicroRespTM (Campbell và cộng sự, 2003). Lượng CO₂ giải phóng ra từ đất thông qua việc sử dụng các chất nền cacbon phổ biến trong môi trường đất như (arabinose, glucose, axit malic, N-acetylglucosamine, axit oxalic, proline và serine). Các băng gel được sử dụng để hấp thu CO₂, sau đó chúng được cho vào máy đo (BMG labtech FLUOstar Omega, Ortenberg, Đức) để xác định hàm lượng CO₂ được giải phóng ra từ đất.

2.4. Phân tích dữ liệu

Tất cả dữ liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm ngôn ngữ Rv.3.1.1 (R-Development-Core-Team, 2014). Trước tiên, bộ dữ liệu được phân tích theo mô hình phản ứng đa biến với các công thức sử dụng glyphosate trên những loại đất khác nhau. Phân tích thành phần chính (Principal Components Analysis - PCA)

được sử dụng như một kỹ thuật phổ biến để phân tích tập dữ liệu đa biến, trong đó một số biến định lượng phụ thuộc tương quan với nhau được trích xuất và mô tả như một tập hợp các biến trực giao mới được gọi là thành phần chính (Abdi and Williams, 2010). ANOVA và HSD cũng được sử dụng để đánh giá phản ứng chức năng hô hấp đối với các công thức xử lý glyphosate.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU



Hình 1. Ảnh hưởng của glyphosate sử dụng lặp lại đến chức năng hô hấp trên ba nhóm đất khác nhau. (T1, T2): Chức năng hô hấp trong Tenosol; (C1, C2): chức năng hô hấp trong Chromosol; (V1, V2): chức năng hô hấp trong Vertosol.

Các ký hiệu từ G1 đến G5 đại diện cho số lần lặp lại riêng lẻ ở mỗi công thức sử dụng glyphosate khác nhau. Hình elip thể hiện giới hạn mức độ tin cậy 95% của mỗi công thức sử dụng glyphosate.

Phân tích thành phần chính (PCA) cho thấy chức năng hô hấp trong đất Vertosol và Chromosol không thay đổi đáng kể khi cung cấp RoundupCT® lặp lại, và chúng được chứng minh bằng các hình elip chong chéo nhau với độ tin cậy 95% (Hình 1V và 1C). Ngược lại, RoundupCT® bón lặp lại 10 lần, trong thời gian 9 tháng đã thay đổi đáng kể đến chức năng hô hấp vi sinh vật trong đất Tenosol.

Tuy nhiên, số lần bón lặp lại ít hơn không ảnh hưởng đáng kể đến chức năng hô hấp vi sinh vật trong nhóm đất này.

Trong phân tích đơn biến cho thấy chức năng hô hấp (công thức đối chứng) trong Tenosol giảm đáng kể ($P \leq 0,05$) (Bảng 1) đối với hầu hết các công thức có sử dụng RoundupCT®. Tuy nhiên, hô hấp không bị ảnh hưởng khi chỉ sử dụng một liều RoundupCT® duy nhất trước khi ủ. Quá trình hô hấp có sử dụng chất nền cacbon (arabinose và glucose) thấp hơn đáng kể ở nghiệm thức 10 lần bón lặp lại so với công thức đối chứng ($P > 0,05$).

Bảng 1. Ảnh hưởng RoundupCT® đến chức năng hô hấp trong đất Tenosol

C-substrates	Nghiệm thức (mg kg ⁻¹)					Tukey HSD	P-value
	0 dose (control)	1 dose (start) (2.93 mg)	1 dose (end) (2.93 mg)	4 doses (monthly) (11.72 mg)	10 doses (quarterly) (29.3 mg)		
Đối chứng	0.078 ^a	0.066 ^{ab}	0.060 ^b	0.063 ^b	0.062 ^b	0.014	0.002
Ara	0.192 ^a	0.176 ^{ab}	0.166 ^{ab}	0.177 ^{ab}	0.157 ^b	0.029	0.015
Glc	0.268 ^a	0.251 ^{ab}	0.236 ^{ab}	0.239 ^{ab}	0.223 ^b	0.040	0.032
malA	0.073 ^a	0.074 ^a	0.069 ^a	0.068 ^a	0.067 ^a	0.013	0.451
Nag	0.161 ^a	0.142 ^a	0.157 ^a	0.145 ^a	0.132 ^a	0.032	0.090
Oxa	0.071 ^a	0.066 ^a	0.066 ^a	0.068 ^a	0.065 ^a	0.010	0.535
Pro	0.118 ^a	0.095 ^a	0.101 ^a	0.100 ^a	0.106 ^a	0.024	0.075
Ser	0.075 ^a	0.075 ^a	0.072 ^a	0.075 ^a	0.074 ^a	0.013	0.953

Dữ liệu trong bảng đại diện cho giá trị trung bình về tốc độ giải phóng CO₂ trong bốn lần lặp lại (µg CO₂-C/g/h). Các giá trị có các chữ cái đi kèm viết giống nhau trong cùng một hàng thể hiện không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $P < 0,05$.

Ký hiệu: Abbreviations: Ara - Arabinose; Glc - Glucose; MalA - Malic

acid; Nag - N-acetylglucosamine; Oxa - Oxalic acid; Pro - Proline; Ser - Serine.

IV. THẢO LUẬN

Sử dụng RoundupCT® lặp lại không ảnh hưởng đáng kể đến chức năng hô hấp vi sinh vật trong đất Vertosol hoặc Chromosol. Tuy nhiên, RoundupCT® có

ảnh hưởng đáng kể đến chức năng hô hấp trong nhóm đất Tenosol, đặc biệt ở công thức sử dụng RoundupCT® lặp lại 10 lần ($2,2 \text{ kg ha}^{-1} / \text{lần}$) trong thời gian 9 tháng. Các nghiệm thức khác, nhận được lượng tương đương từ $12 \text{ mg glyphosate kg}^{-1}$ trở xuống không ảnh hưởng đến chức năng hô hấp. Kết quả này cho thấy sự tương đồng với những phát hiện trước đây, rằng nồng độ dưới 10 mg kg^{-1} nói chung không có ảnh hưởng đáng kể đến chức năng hô hấp của vi sinh vật trong đất (Nguyen *et al.*, 2016).

Phân tích đơn biến cho thấy rằng trong trường hợp không có chất nền C bổ sung vào Tenosol (tức chỉ cung cấp nước), các công thức sử dụng một liều RoundupCT® duy nhất vào cuối thí nghiệm, công thức 4 liều và 10 liều lặp lại đều dẫn đến hô hấp thấp hơn đáng kể ($P < 0,05$) so với công thức không sử dụng RoundupCT®. Sự khoáng hóa của chất nền arabinose và glucose cũng giảm xuống khi Tenosol nhận 10 liều RoundupCT® trong suốt 9 tháng, nhưng không có sự khác biệt đáng kể nào được phát hiện ở hầu hết các trường hợp khác. Một nghiên cứu trước đó cũng chỉ ra rằng chức năng hô hấp từ đất sau khi sử dụng glyphosate từ hai, ba và bốn lần đều thấp hơn đáng kể so với một lần sử dụng (Andrea và cộng sự, 2003).

Hart và Brookes (1996) phát hiện ra rằng glyphosate tích lũy hàng năm trong suốt 19 năm, không làm thay đổi quá trình khoáng hóa C so với đất đối chứng không được xử lý glyphosate. Trong thí nghiệm này, việc sử dụng glyphosate lặp lại với khung thời gian ngắn hơn (mỗi 4 tuần một lần) và Andrea *et al.*, (2003) mỗi 2 tuần

một lần, so với sử dụng glyphosate hàng năm được mô tả bởi Hart và Brookes (1996), có thể tạo ra áp lực chọn lọc lớn hơn trên quần thể vi sinh vật để tạo ra sự chuyển dịch chức năng. Tuy nhiên, theo Lancaster và cộng sự (2009), việc sử dụng glyphosate lặp đi lặp lại có thể tác động nhiều đến cộng đồng vi sinh vật trong đất hơn là việc sử dụng glyphosate đơn lẻ. Có thể hình dung rằng glyphosate được bón hàng năm hoàn toàn bị phân hủy trước lần bón sau, trong khi việc sử dụng hàng tháng và thực tế cứ sau 2 tuần như báo cáo của (Andrea và cộng sự, 2003) có thể dẫn đến tích tụ dần dần các chất tồn dư, do đó làm nghiêm trọng thêm các tác động tiềm tàng đối với quần thể vi sinh vật trong đất.

V. KẾT LUẬN

Việc sử dụng RoundupCT® với 10 lần lặp lại trong thời gian 9 tháng đã tạo ra những thay đổi đáng kể về chức năng hô hấp được quan sát thấy trong nhóm đất cát Tenosol. Điều này cho thấy, đối với đất có ít chất hữu cơ và hoạt động vi sinh vật thấp thì khả năng phục hồi đất rất kém sau khi sử dụng glyphosate. Tuy nhiên, việc sử dụng RoundupCT® với 10 lần lặp lại theo tỷ lệ ghi trên nhãn trong thời gian 9 tháng, trong thực tế cũng rất hiếm khi xảy ra. Việc xử lý glyphosate lặp lại 4 liều trong 9 tháng thực tế hơn nhưng không gây ra những thay đổi đáng kể đến chức năng hô hấp trong bất kỳ loại đất nào. Điều này cho thấy rằng, theo thực tiễn nông nghiệp hiện nay, tác động của việc sử dụng glyphosate lặp lại đối với chức năng hô hấp của vi sinh vật trong đất rất ít.

REFERENCES

1. Abdi, H., Williams, L.J., 2010. Principal component analysis. *John Wiley & Sons* 2.
2. Andrea, M.M.d., Peres, T.B., Luchini, L.C., 2003. Influence of repeated applications of glyphosate on its persistence and soil bioactivity. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 38, 1329-1335.
3. Benbrook, C.M., 2016. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environmental Sciences Europe* 28, p3.
4. Campbell, C.D., Chapman, S.J., Cameron, C.M., Davidson, M.S., Potts, J.M., 2003. A rapid microtiter plate method to measure carbon dioxide evolved from carbon substrate amendments so as to determine the physiological profiles of soil microbial communities by using whole soil. *Applied and Environmental Microbiology* 69, 3593-3599.
5. European-Economic-Community (EEC), 2007. *Council Directive of 15 July 1991 concerning the placing of plant protection products on the market (91/414/EEC, OJL 230)*.
6. Hart, M.R., Brookes, P.C., 1996. Soil microbial biomass and mineralisation of soil organic matter after 19 years of cumulative field applications of pesticides. *Soil Biology and Biochemistry* 28, 1641-1649.
7. Helander, M., Saloniemi, I., Saikkonen, K., 2012. Glyphosate in northern ecosystems. *Trends in Plant Science* 17, 569-574.
8. Isbell, R.F., 1997. Concepts and rationale of the Australian soil classification / R.F. Isbell, W.S McDonald, L.J. Ashton. *Canberra: Australian Collaborative Land Evaluation Program*, p152.
9. Konopka, A., Oliver, L., Turco, J.R.F., 1998. The Use of Carbon Substrate Utilization Patterns in Environmental and Ecological Microbiology. *Microb Ecol* 35, 103-115.
10. Lancaster, S.H., Hollister, E.B., Senseman, S.A., Gentry, T.J., 2009. Effects of repeated glyphosate applications on soil microbial community composition and the mineralization of glyphosate. *Pest Management Science*, 66(1):59-64. doi: 10.1002/ps.1831.
11. M.C. Zabaloy, J.L. Garland, Gomez, M.A., 2008. An integrated approach to evaluate in the impacts of the herbicides glyphosate, 2,4-D and metsulfuron-methyl on soil microbial communities in the Pampas region, Argentina. *Applied Soil Ecology* 40, 1-12.
12. Nannipieri, P., Kandeler, E., Ruggiero, P., 2002. Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil. Enzymes in the environment. *Marcel Dekker, New York*, 1-33.
13. Nguyen, D.B., Rose, M.T., Rose, T.J., Morris, S.G., van Zwieten, L., 2016. Impact of glyphosate on soil microbial biomass and respiration: A meta-analysis. *Soil Biology and Biochemistry* 92, 50-57.
14. Nguyen, D.B., Rose, M.T., Rose, T.J., van Zwieten, L., 2018. Effect of glyphosate and a commercial formulation on soil functionality assessed by substrate induced respiration and enzyme activity. *European Journal of Soil Biology* 85, 64-72.
15. Primost, M.A., Gil, M.N., Bigatti, G., 2017. High bioaccumulation of cadmium and other metals in Patagonian edible gastropods. *Marine Biology Research* 13, 774-781.
16. R-Development-Core-Team, 2014. A Language and Environment for Statistical Computing v.3.1.1, Vienna, Austria. *The R Foundation for Statistical Computing*.
17. Rose, M.T., Cavagnaro, T.R., Scanlan, C.A., Rose, T.J., Vancov, T., Kimber, S., Kennedy, I.R., Kookana, R.S., Van Zwieten, L., 2016. Impact of Herbicides on Soil Biology and Function, in: Donald, L.S. (Ed.), *Advances in Agronomy. Academic Press*, pp. 133-220.
18. Silva, V., Montanarella, L., Jones, A., Fernández-Ugalde, O., Mol, H. G. J., Ritsema, C. J., & Geissen, V. (2018). Distribution of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in agricultural topsoils of the European Union. *Science of The Total Environment*, 621, 1352-1359. doi:https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.093