

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CỦA KALI DICROMAT ($K_2Cr_2O_7$) TRÊN LOÀI BÈO HOA DÂU (*Azolla caroliniana* Willd., 1810)

Nhận bài:

09 – 07 – 2017

Chấp nhận đăng:

28 – 09 – 2017

<http://jshe.ued.udn.vn/>

Nguyễn Văn Khánh^{a*}, Bùi Thị Như Quỳnh^b

Tóm tắt: Nghiên cứu trình bày kết quả thử nghiệm độc tính cấp tính của dung dịch chất thử Kali dicromat đối với Bèo hoa dâu (*Azolla caroliniana* Willd) dựa theo quy trình OECD 221 (Organization for Economic Co-operation and Development). Kết quả nghiên cứu xác định hóa chất, nồng độ và thời gian khử trùng tối ưu nhất khi nuôi cấy Bèo hoa dâu là NaOCl 0,05% trong thời gian 20 giây. Xác định được EC_{50} của Bèo hoa dâu đối với tham số trọng lượng tươi là 8,92 mg/L và 14,1 mg/L đối với tham số trọng lượng khô. Đồng thời kết quả phân tích tương quan cho thấy có sự tương quan nghịch giữa nồng độ $K_2Cr_2O_7$ với các biến trọng lượng tươi và trọng lượng khô với hệ số tương quan rất cao ($r > 0,97$). Điều này cho thấy Bèo hoa dâu nhạy cảm với các chất ô nhiễm. Qua đó, nghiên cứu này mở ra khả năng sử dụng Bèo hoa dâu nhằm giám sát độc tính sinh thái đối với chất lượng nước tại Việt Nam.

Từ khóa: độc tính cấp tính; độc tính sinh thái; bèo hoa dâu; Kali dicromat.

1. Giới thiệu

Ngày nay, các cảm biến sinh học tỏ ra thuận lợi trong việc đánh giá chất lượng nước như kiểm tra trực tiếp nguồn nước, nhạy cảm với chất độc và phát hiện nhiều độc tố cùng một thời điểm, cảnh báo chất độc, không chỉ theo dõi độc tính mà còn theo dõi tốc độ thay đổi thành phần - nồng độ chất độc, có thể theo dõi từ xa, dễ dàng sử dụng... [3]. Trong đó, thử nghiệm độc tính sinh thái là quá trình mô tả, giám sát mức độ ảnh hưởng của các chất hóa học lên sinh vật thử nghiệm kết quả được sử dụng để xác định nồng độ ô nhiễm, đánh giá sự cần thiết trong kiểm soát chất thải hay thiết lập tiêu chuẩn về chất lượng môi trường [4],[3].

Nghiên cứu của Nathalia Garlich ứng dụng bèo hoa dâu (*Azolla caroliniana*) làm sinh vật thử nghiệm đối với dung dịch Diquat đồng thời chỉ ra rằng mức độ chống chịu của bèo hoa dâu lớn hơn bèo tấm (*Lemna minor*) [7]. Tuy nhiên, nghiên cứu này vẫn chưa đưa ra quy trình cụ thể đối với thử nghiệm độc tính trên bèo

hoa dâu.

Theo nghiên cứu của Nguyễn Hữu Phước và cộng sự, bèo hoa dâu chứa lượng protein từ 20-25% trọng lượng khô và đầy đủ các loại axit amin. Do đó, ở Việt Nam, bèo hoa dâu chủ yếu được sử dụng trong hồ cá cảnh, làm thức ăn cho cá hoặc gia súc, gia cầm [9]. Tuy nhiên, ứng dụng bèo hoa dâu làm sinh vật giám sát ô nhiễm môi trường nước vẫn còn là một hướng mới tại Việt Nam.

Ngoài ra, Kali dicromat ($K_2Cr_2O_7$) là một chất oxy hóa mạnh có màu đỏ cam, khi hòa tan vào trong nước tạo môi trường axit do có gốc $Cr_2O_7^{2-}$. $K_2Cr_2O_7$ được sử dụng rộng rãi trong các ngành công nghiệp sản xuất các hợp chất có chứa crom được tìm thấy trong ngành công nghiệp dệt nhuộm, thuộc da và in lụa, trong sơn tĩnh điện, trong sản xuất pháo hoa và chất nổ, là chất tạo màu, trong bảo quản gỗ, kim loại và chất chống ăn mòn... Ngoài ra, $K_2Cr_2O_7$ còn được sử dụng nhiều trong các nghiên cứu về độc tính sinh thái, cũng như chất giả ô nhiễm nhằm có sự tham chiếu giữa các đối tượng [6].

Do đó, xuất phát từ cơ sở lý luận và thực tiễn trên tôi tiến hành chọn đề tài: “Nghiên cứu độc tính của Kali dicromat ($K_2Cr_2O_7$) trên loài Bèo hoa dâu (*Azolla caroliniana* Willd., 1810)” nhằm mục tiêu xây dựng quy trình về thử nghiệm độc tính sinh thái của $K_2Cr_2O_7$

^{a,b}Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng

* Liên hệ tác giả

Nguyễn Văn Khánh

Email: nvkhanh@ued.udn.vn

trên loài bèo hoa dâu (*Azolla caroliniana*) dựa theo quy trình của OECD. Nghiên cứu góp phần đưa ra dẫn chứng về độ nhạy cảm của bèo hoa dâu đối với chất thử nghiệm $K_2Cr_2O_7$, từ đó có sự tham chiếu với các đối tượng nghiên cứu khác, đồng thời có cơ sở sử dụng bèo hoa dâu như một sinh vật giám sát ô nhiễm môi trường nước tại Việt Nam.

2. Cơ sở lí thuyết và phương pháp nghiên cứu

2.1. Cơ sở lí thuyết

Bèo hoa dâu (*Azolla caroliniana*) là một loài thực vật thủy sinh tăng trưởng mạnh và có sự thay đổi về màu sắc, đó chính là nguyên nhân gợi ý sử dụng nó như một đối tượng thí nghiệm. Các thí nghiệm đầu tiên được thực hiện tại Khoa Sinh lý học thực vật, Đại học Rutgers từ tháng 10 năm 1951 đến tháng 6 năm 1952, chỉ ra ảnh hưởng của hàm lượng Photpho đến mức độ tăng trưởng của loài bèo hoa dâu. Ngoài ra còn có các nghiên cứu về việc nuôi cấy bèo trong môi trường không có nitơ hay việc bổ sung 2,4-D trong môi trường nuôi cấy. Kết quả về sự thay đổi về màu sắc nhanh chóng xuất hiện. Ở nồng độ photpho thấp, cây ngừng phát triển hoặc phát triển chậm, rễ bị uốn cong và màu sắc cho thấy sự thiếu photpho xuất hiện [3].



Hình 1. Bèo hoa dâu (*Azolla caroliniana* Willd.)

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân lập, khử trùng và nuôi cấy

Phương pháp phân lập được thực hiện theo phương pháp của IRRI, 1992 [13], quy trình nuôi cấy sẽ được thực hiện theo tiêu chuẩn của OECD (221, 2006). Những cây bèo hoa dâu với phiến lá xanh, khỏe mạnh được lựa chọn đem vào trong phòng thí nghiệm, lặt trong môi trường nước cất nhiều lần nhằm loại bỏ

những mảnh vụn vô cơ, hữu cơ và các động vật không xương sống. Việc khử trùng được thực hiện trong tủ cấy với các chất khử trùng: NaOCl 0,05% trong khoảng từ 20 giây đến 2 phút, sau đó cây được rửa sạch 3 lần với nước cất và chuyển vào bình đựng môi trường nuôi cấy Hoagland với pH =5,5±0,1, hấp khử trùng tại nhiệt độ 121°C trong thời gian 2 tiếng. Tất cả hóa chất được sử dụng trong thí nghiệm đều phải tinh khiết [13].

Mẫu bèo sau 7 ngày nuôi cấy ổn định tại nhiệt độ 25±1°C, ánh sáng huỳnh quang trắng 4500 - 6500 lux, theo dõi và đánh giá ảnh hưởng của chất khử trùng lên khả năng sinh trưởng và phát triển của Bèo hoa dâu (*Azolla caroliniana*) thông qua các chỉ tiêu: màu sắc lá, rễ và tốc độ tăng trưởng trung bình theo khối lượng cây.

2.2.2. Phương pháp thí nghiệm

a. Thí nghiệm thăm dò

Thí nghiệm độc tính thăm dò của bèo hoa dâu được thiết kế theo kiểu CRD (Completely Randomized Design) thực hiện theo quy trình hướng dẫn của OECD, 2006 trong điều kiện tĩnh 7 ngày (168 giờ) với dãy 7 nồng độ khác nhau của độc chất $K_2Cr_2O_7$ (6,67; 13,33; 53,33; 80; 106,67; 160; 200 mg/L) và mẫu đối chứng, mỗi nồng độ được lặp lại ở 4 cốc, mỗi cốc có từ 2 - 3 cây bèo hoa dâu/150 ml môi trường. Bèo được cân khối lượng bằng cân vi sinh trước khi cấy vào ly (nuôi trong môi trường Hoagland với cùng điều kiện nhiệt độ, ánh sáng...).

b. Thí nghiệm chính thức

Thí nghiệm chính thức được thực hiện theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với dãy 7 nồng độ khác nhau của độc chất $K_2Cr_2O_7$ (3,33; 6,67; 10; 13,33; 60; 106,67; 160 mg/L) và mẫu đối chứng. Với mỗi dãy nồng độ lặp lại 8 cốc, mỗi cốc có từ 2-3 cây bèo hoa dâu/150ml môi trường. Bèo được cân khối lượng trước khi cấy vào ly (nuôi trong môi trường Hoagland với cùng điều kiện nhiệt độ, ánh sáng...).

2.2.3. Phương pháp xử lí số liệu

Tốc độ tăng trưởng trung bình (*Average specific growth rate*) [52]

$$\mu_{i-j} = \frac{\ln(N_j) - \ln(N_i)}{t}$$

Trong đó:

- μ_{i-j} : Tốc độ tăng trưởng trung bình đối với các tham số trọng lượng khô, trọng lượng tươi;

- N_j : Các tham số trọng lượng tươi, trọng lượng khô đo lường ở chậu thử nghiệm (hoặc chậu đối chứng) lúc kết thúc thí nghiệm;
- N_i : Các tham số trọng lượng tươi, trọng lượng khô đo lường ở chậu thử nghiệm (hoặc chậu đối chứng) lúc bắt đầu thí nghiệm;
- T: Thời gian 7 ngày (168 h).

Phần trăm ức chế tốc độ tăng trưởng (Percent inhibition of growth rate) [52]

$$\% Ir = \frac{\mu C - \mu T}{\mu C} \times 100$$

Trong đó:

- %Ir : Phần trăm ức chế tốc độ tăng trưởng đối với các tham số trọng lượng khô, trọng lượng tươi;
- μC : Tốc độ tăng trưởng trung bình đối với các tham số trọng lượng tươi, trọng lượng khô ở chậu đối chứng;
- μT : Tốc độ tăng trưởng trung bình đối với các tham số trọng lượng tươi, trọng lượng khô ở chậu thử nghiệm.

Nồng độ ức chế sinh trưởng 50% (EC50- Effective Concentration 50%) [10]

Dựa vào phần trăm ức chế tốc độ tăng trưởng để lập phương trình logarit về mối quan hệ giữa nồng độ dung dịch $K_2Cr_2O_7$ và phần trăm ức chế tốc độ tăng trưởng, từ phương trình nội suy tính toán giá trị EC₅₀ (Effective concentration 50% - nồng độ gây ức chế sinh trưởng 50% ở sinh vật).

So sánh các giá trị trung bình bằng phân tích phương sai (ANOVA) kiểm tra Tuckey's với $\alpha = 0,05$ và phân tích tương quan hồi quy trên phần mềm SPSS, phần mềm Microsoft excel.

3. Kết quả và đánh giá

3.1. Kết quả quy trình phân lập, khử trùng và nuôi cấy

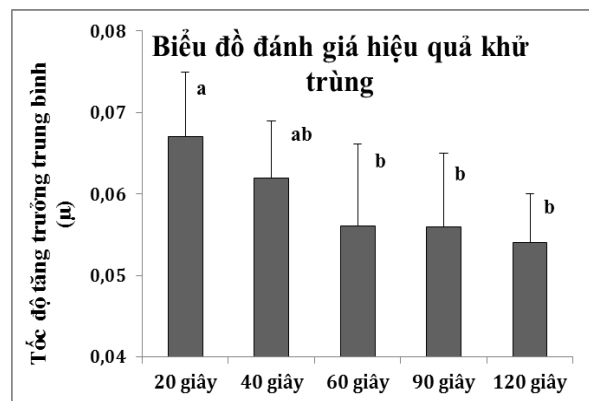
Môi trường nuôi cấy Hoagland chứa nhiều loại muối khoáng, chất dinh dưỡng, thích hợp cho sự phát triển của các loại nấm, vi khuẩn trong đó đặc biệt là tảo. Do đó, quy trình khử trùng có nhiệm vụ loại sạch căn bản, các loại tảo, vi sinh vật nhằm đảm bảo môi trường hoàn toàn vô trùng và không ảnh hưởng đến kết quả sau này. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình khử trùng bao

gồm: hóa chất khử trùng, nồng độ và thời gian. Và sự thành công của quá trình khử trùng phải đảm bảo được 2 thuộc tính: có khả năng diệt khuẩn tốt, không hoặc có mức độ độc hại thấp đối với mẫu thực vật [6].

Bảng 1. Khối lượng tươi trong thời gian nuôi cấy 7 ngày

Thời gian khử trùng (giờ)	Khối lượng ban đầu (mg)	Khối lượng kết thúc (mg)	Tốc độ tăng trưởng trung bình
20 (n = 12)	55,12±5,34	87,96±7,64	0,08±0,01a
40 (n = 12)	56,65±2,57	87,62±4,94	0,06±0,01ab
60 (n = 12)	58,08±2,87	86,29±8,13	0,06±0,01b
90 (n = 12)	54,54±3,29	80,83±6,45	0,06±0,01b
120 (n = 12)	55,33±3,33	80,91±4,26	0,05±0,01b

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cột có cùng ký tự a, b không khác nhau có ý nghĩa ($\alpha = 0,05$)



Hình 2. Biểu đồ đánh giá hiệu quả khử trùng dựa vào tốc độ tăng trưởng trung bình (μ)

Kết quả Bảng 1 khảo sát khối lượng ban đầu và kết thúc của bèo hoa dâu trong thời gian 7 ngày đối với chất khử trùng là NaOCl 0,05% trong 5 mốc thời gian: 20 giờ, 40 giờ, 60 giờ, 90 giờ và 120 giờ. Khối lượng bèo khi bắt đầu thí nghiệm không có sự khác nhau có ý nghĩa ở $\alpha = 0,05$. Sau khi kết thúc thí nghiệm có sự tăng trưởng khác nhau giữa các mẫu ở những mốc thời gian khác nhau. Tốc độ tăng trưởng giữa mốc thời gian là 20 giờ có sự khác biệt so với mốc 40 giờ và những mốc còn lại. Dựa theo biểu đồ Hình 2 cho thấy tốc độ tăng trưởng trung bình đối với mốc thời gian 20 giờ đạt 0,067±0,008 cao nhất trong 5 mốc thời gian. Thấp nhất là thời gian 120 giờ với tốc độ tăng trưởng

0,054±0,006. Do đó, trong thời gian khử trùng càng lâu càng làm ức chế tốc độ tăng trưởng.

Vì vậy, khử trùng bèo hoa dâu ở thời gian 20 giây với chất khử trùng là NaOCl 0,05% đạt được kết quả tối ưu nhất.

3.2. Kết quả thử nghiệm thăm dò

Thí nghiệm thăm dò nhằm xác định ngưỡng gây ức chế tốc độ tăng trưởng của bèo hoa dâu dựa trên tham số trọng lượng tươi.

Từ kết quả Bảng 2 cho thấy không có sự khác biệt giữa khối lượng ban đầu của bèo ở các nồng độ khác nhau. Sau 7 ngày thí nghiệm, có sự khác nhau rõ ràng giữa mẫu đối chứng với các mẫu còn lại, 2 nồng độ là 160 (mg/L) và 200 (mg/L) ghi nhận sự khác nhau với các mẫu trên và có khối lượng thấp nhất.

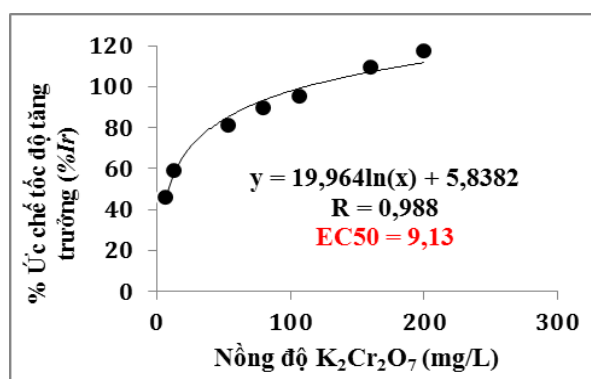
Bảng 2. Trọng lượng tươi của bèo hoa dâu trong thời gian thử nghiệm

Nồng độ $K_2Cr_2O_7$ (mg/L)	Trọng lượng tươi (mg)	
	Ban đầu	Kết thúc
Đối chứng	48,58±1,92	88,33±10,37a
6,67	44,2±1,71	61,23±4,18b
13,33	46,05±4,94	58,95±8,31b
53,33	42,65±3,27	47,95±4,98bc
80	4,65±2,95	47,53±2,63bc
106,67	48,43±5,81	49,85±5,87bc
160	44,45±5,14	42,03±4,83c
200	45,9±2,15	41,45±2,34c

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng 1 cột có cùng ký tự a, b, c không khác nhau có ý nghĩa ($\alpha = 0,05$)

Bảng 3. Tốc độ tăng trưởng và tỉ lệ ức chế tăng trưởng theo tham số trọng lượng tươi

Nồng độ $K_2Cr_2O_7$ (mg/L)	Đối chứng	6,67	13,33	53,33	80	106,67	160	200
Tốc độ tăng trưởng trung bình (μ)	0,09	0,05	0,04	0,02	0,01	0,01	-0,01	-0,02
% Ức chế tốc độ tăng trưởng (%Tr)	0	45,88	58,82	81,18	89,41	95,29	109,41	117,65



Hình 3. Biểu đồ phân trăm ức chế tốc độ tăng trưởng theo trọng lượng tươi

Sau 7 ngày thí nghiệm, ở mẫu đối chứng bèo phát triển bình thường, không có bất kỳ dấu hiệu tổn thương nào. Tuy nhiên, màu sắc và mức độ mọc lá mới của bèo bắt đầu có dấu hiệu bị ảnh hưởng từ 6,67 và 13,33

mg/L. Màu lá hơi chuyển sang vàng xanh và khối lượng bèo sau 7 ngày cũng có sự khác biệt lớn. Với các nồng độ 53,33; 80 và 106,67 mg/L bèo sinh trưởng tương đối ổn định vào 3 ngày đầu tiên, bắt đầu ngày thứ 4 bèo có dấu hiệu tách, vàng lá và úa rể. 2 nồng độ còn lại là 160 và 200 mg/L $K_2Cr_2O_7$ với 3 ngày đầu bèo chỉ có dấu hiệu tăng nhẹ về thể tích, là vàng úa và tách rời. Những ngày còn lại, bèo có dấu hiệu chết dần. Sau 7 ngày thì tốc độ tăng trưởng chuyển thành -0,008 và -0,015.

Với EC_{50} đối với chất thử nghiệm là 9,13 (mg/L), do đó nghiên cứu xác định 8 dãy nồng độ nằm trong khoảng 0 đến 160 mg/L.

3.3. Kết quả thử nghiệm chính thức

3.3.1. Điều kiện về pH trong thời gian thử nghiệm

Không những các yếu tố về độc chất ảnh hưởng đến thí nghiệm mà yếu tố môi trường bên ngoài đôi khi cũng có ảnh hưởng đến kết quả của thí nghiệm sau này. Do

đó, nhằm đưa ra những đánh giá khách quan hơn về thí nghiệm này, yếu tố về pH được đo đạc trong quá trình thực hiện và được biểu diễn ở Bảng 4.

Bảng 4. Nhiệt độ và pH trong quá trình thí nghiệm

Nồng độ	pH trước	pH sau
Đối chứng	5,56±0,06	5,78±0,25
3,33	5,58±0,04	5,46±0,16
6,67	5,53±0,03	5,4±0,2
10	5,47±0,03	5,36±0,13
13,33	5,48±0,04	5,35±0,07
60	5,25±0,07	5,1±0,19
106,67	5,05±0,06	5±0,15
160	4,99±0,09	4,93±0,07

Độ pH có xu hướng giảm dần theo mức độ tăng nồng độ $K_2Cr_2O_7$. Sau 7 ngày thí nghiệm, tại lô đối chứng pH tăng, còn lại tại các nghiệm thức khác pH đều có xu hướng giảm. Nguyên nhân do khi hòa tan $K_2Cr_2O_7$ trong nước tạo môi trường axit do có gốc $Cr_2O_7^{2-}$. pH của thí nghiệm dao động từ 4,78-6,1. Theo nghiên cứu của Z. Stepniewska và cs (2005) và Vimal Chandra Pandey (2012) thì ngưỡng chịu đựng của bèo hoa dâu nằm vào khoảng 3,5-7,5 [11] [12]. Vì thí nghiệm được thực hiện trong phòng nuôi do đó yếu tố nhiệt độ được duy trì ở mức độ ổn định giao động từ 25±1°C. Theo Debusk (1987), nhiệt độ đảm bảo đạt tăng trưởng tối đa của bèo là 22°C, và ngưỡng phát triển ổn định là từ 20-30°C [13].

Vì vậy, cho thấy các điều kiện về nhiệt độ và pH của thí nghiệm đều nằm trong khoảng cho phép của bèo hoa dâu.

3.3.2. Giá trị EC_{50} của $K_2Cr_2O_7$ trên loài Bèo hoa dâu

Nhằm đánh giá độ nhạy cảm của Bèo hoa dâu đối với chất thử nghiệm là $K_2Cr_2O_7$, nghiên cứu tiến hành xác định ngưỡng ức chế 50% tốc độ tăng trưởng của bèo hoa dâu qua 2 tham số: trọng lượng tươi và trọng lượng khô.

Bảng 5. Tốc độ tăng trưởng trung bình của các Bèo hoa dâu trong thời gian thí nghiệm (7 ngày)

Nồng độ $K_2Cr_2O_7$ (mg/L)	Ngày 3	Ngày 5	Ngày 7
Đối chứng	0,09±0,02	0,08±0,01	0,08±0,01
3,33	0,07±0,02	0,07±0,02	0,06±0,01
6,67	0,06±0,03	0,05±0,01	0,05±0,01
10,00	0,05±0,01	0,05±0,01	0,04±0,01
13,33	0,04±0,02	0,04±0,01	0,03±0,01
60,00	0,02±0,01	0,01±0,01	0,01±0,01
106,67	0,01±0,01	0,01±0,01	0,01±0,01
160,00	0,01±0,01	0,01±0,01	-0,01±0,01

Quan sát Bảng 5 quá trình sinh trưởng của Bèo hoa dâu trong 3 ngày đầu tiên, không có dấu hiệu khác biệt lớn giữa các mẫu từ đối chứng đến nồng độ 13,33 mg/L. Mẫu đối chứng phát triển mạnh nhất với tốc độ phát triển là 0,085±0,02. Các nồng độ còn lại, bèo có dấu hiệu úa lá. Đến ngày thứ 5, mẫu đối chứng vẫn sinh trưởng tươi tốt bình thường, bèo ở nồng độ từ 3,33 đến 13,33 mg/L $K_2Cr_2O_7$ có dấu hiệu vàng lá. Các mẫu từ nồng độ 60 đến 160 mg/L bắt đầu tách lá, thối rữa, tốc độ tăng trưởng rất chậm, một vài mẫu còn có tốc độ tăng trưởng âm.

Đến ngày cuối cùng của đợt thí nghiệm sẽ thấy sự khác biệt rõ rệt với 4 nhóm nồng độ. Nhóm I là mẫu đối chứng, bèo sinh trưởng tốt, không có bất kỳ dấu hiệu tổn thương nào. Nhóm II từ nồng độ 3,33 đến 13,33 mg/L $K_2Cr_2O_7$, bèo vẫn sinh trưởng nhưng có hiện tượng úa lá và hoại tử rễ, nồng độ 13,33 bắt đầu có hiện tượng tách lá. Nhóm III gồm nồng độ 60 và 106,67 mg/L $K_2Cr_2O_7$, bèo bị tách lá, chuyển sang màu vàng hoặc vàng nâu, sinh trưởng kém hoặc không tăng trưởng. Nhóm cuối cùng IV là nồng độ 160 mg/L, bèo bị tách lá nghiêm trọng, màu lá chuyển hoàn toàn qua nâu hoặc nâu vàng, bèo chết hoàn toàn, tốc độ tăng trưởng âm là -0,009±0,003.

Bảng 6. Trọng lượng tươi và khô ban đầu và sau 7 ngày thí nghiệm

Nồng độ $K_2Cr_2O_7$ (mg/L)	Trọng lượng tươi (mg)		Trọng lượng khô (mg)	
	Ban đầu	Kết thúc	Ban đầu	Kết thúc

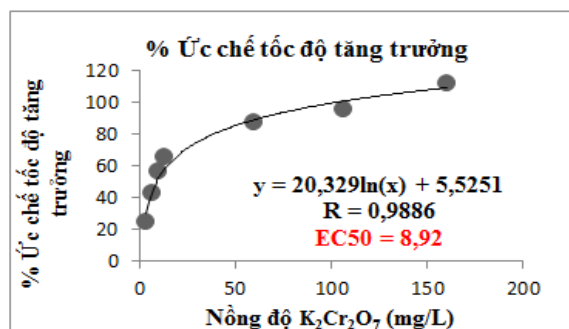
Đối chứng	38,29 ± 6,45	66,53±11,13a	2,26±0,37	3,15±0,33a
3,33	35,44±3,84	53,86±6,11b	2,1±0,21	3,11±0,27a
6,67	35,11±3,17	48,59±4,57b	2,08±0,17	2,95±0,32a
10,00	35,56±2,97	45,45±3,16b	2,13±0,18	2,79±0,32a
13,33	36,84±2,97	44,98±3,66b	2,18±0,17	2,69±0,59a
60,00	40,11±3,94	43,2±5,53c	2,39±0,22	2,13±0,46b
106,67	40,31±4,24	41,44±4,13c	2,4±0,26	2,15±0,52b
160,00	36,5±4,6	35,44±4,25d	2,25±0,28	1,94±0,26b

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng 1 cột có cùng ký tự a, b, c, d không khác nhau có ý nghĩa ($\alpha = 0,05$)

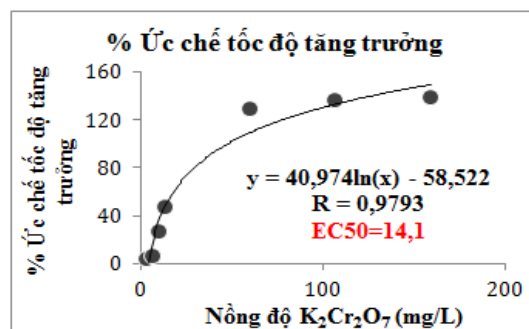
Khối lượng ban đầu của mẫu đối chứng và các mẫu thử không có khác biệt nhằm đảm bảo kết quả của sự khác biệt sau khi kết thúc hoàn toàn dựa vào quá trình thí nghiệm. Đối với tham số trọng lượng tươi, qua so sánh các giá trị trung bình, có sự khác biệt giữa 4 nhóm nồng độ với. Trọng lượng tươi có xu hướng giảm dần theo chiều tăng nồng độ $K_2Cr_2O_7$. Đối với tham số trọng lượng khô, có sự khác biệt giữa nhóm nồng độ từ 0-13,33 mg/L với những nồng độ còn lại. Qua đó, nghiên cứu chỉ ra được tham số trọng lượng tươi có sự phân biệt rõ ràng hơn trọng lượng khô, cụ thể

hơn mức độ ảnh hưởng của $K_2Cr_2O_7$ lên Bèo hoa dâu (*Azolla caroliniana*).

Qua kết quả Hình 4, cho thấy EC_{50} của bèo hoa dâu là 8,92 mg/L đối với biến trọng lượng tươi và $EC_{50} = 14,1$ mg/L đối với biến số trọng lượng khô. Theo nghiên cứu độc tính của Bèo tấm (*Lemna minor*) của Nguyễn Bảo Ngọc (2016) đối với chất thử nghiệm cũng là $K_2Cr_2O_7$ cho kết quả EC_{50} là 1,53 mg/L đối với biến trọng lượng tươi và 0,86 mg/L với biến trọng lượng khô và theo nghiên cứu của Nathalia Garlich (2016) cho thấy độ nhạy của *Lemna minor* > *Azolla caroliniana* [8].



(a)



(b)

Hình 4. (a) Phần trăm ức chế dựa trên tham số trọng lượng tươi và (b) phần trăm ức chế dựa trên tham số trọng lượng khô

Theo một nghiên cứu khác về sự tích lũy kim loại nặng của bèo hoa dâu của R. Bennicelli (2004) tại Phần Lan, cho thấy bèo bị ức chế từ 20-27% tốc độ tăng trưởng ở nồng độ 0,1-1 mg/L Cr(IV). Dựa vào kết quả của Hình 4, đối với nồng độ 3,33 mg/L $K_2Cr_2O_7$ ức chế 25% mức độ tăng trưởng của bèo hoa dâu. Điều đó có thể được giải thích do sự khác nhau về điều kiện của 2 nước Việt Nam và Phần Lan, khiến cho bèo hoa dâu có

khả năng chống chịu khác nhau đối với cùng một chất ô nhiễm. Do đó cho thấy, kết quả nghiên cứu độc tính của Bèo hoa dâu đối với chất thử nghiệm là Kali dicromat phù hợp với những nghiên cứu trước.

4. Kết luận

Đánh giá hiệu quả khử trùng của mẫu bèo hoa dâu được thực hiện với chất khử trùng là NaOCl 0,05% với thời gian khử trùng hiệu quả nhất là 20 giây.

Thí nghiệm độc tính của bèo hoa dâu với chất thử nghiệm là Kali dicromat cho kết quả $EC_{50} = 8,92$ mg/L đối với tham số trọng lượng tươi, $EC_{50} = 14,1$ mg/L đối với tham số trọng lượng khô. Qua đó cho thấy bèo hoa dâu có các ưu điểm về khả năng sống, dễ nuôi cấy, đồng thời khả năng chống chịu với chất ô nhiễm cao hơn Bèo tấm (*Lemna minor*).

Tài liệu tham khảo

- [1] Bengt Errik Bengtsson và Nguyen Thi Kim Oanh (1995). Toxicity to Microtox, micro-algae and duckweed of effluents from the Bai Bang paper company (BAPACO), a Vietnamese bleached kraft pulp and paper mill. *Environmental Pollution*, 90(3), 99-391.
- [2] Catherine Gonzalez và Richard Greenwood (2009). Water Rapid Chemical and Biological techniques for Water Monitoring. *Water Quality Measurements Series*, 125-130.
- [3] Julius Cohn và Robert N. Renlund (1952). Notes on Azolla caroliniana. *American Fern Society*, 43(1), 7-11.
- [4] Kathryn Elizabeth và Lindsay (1995). The Use of Plants for Environmental Monitoring and Assessment. *Environmental Safety*, 30, 289-301.
- [5] Lisa Taylor (2007). Biological Test Method: Test for Measuring the Inhibition of Growth Using the Freshwater Macrophyte, *Lemna minor*. *Environment Technology Centre Canada*, 1-3.
- [6] L. Wollenberger, B. Halling Sørensen, và K. O. Kusk (2000). Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 40(7), 30-723.
- [7] Nathalia Garlich và c.s (2016). Diquat associated with copper sources for algae control: Efficacy and ecotoxicology. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 51(4), 21-215.
- [8] Nguyễn Bảo Ngọc (2016). Nghiên cứu quy trình thử nghiệm độc học sinh thái của Kali Dicromat ($K_2Cr_2O_7$) trên loài bèo tấm (*Lemna minor* L.1753) sử dụng làm sinh vật giám sát ô nhiễm môi trường nước. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - ĐHQĐN*, 1(110), 121-125.
- [9] Nguyễn Hữu Phước và cs (2001). Thu nhận cây bèo hoa dâu bằng phương pháp sinh sản hữu tính. *Tạp chí Khoa học và công nghệ quốc gia*, pp 948.
- [10] OECD (2006). *Lemna* sp. Growth Inhibition Test. *Guideline for testing chemicals*, 1-26.
- [11] R. Bennicelli và c.s (2004). The ability of *Azolla caroliniana* to remove heavy metals (Hg(II), Cr(III), Cr(VI)) from municipal waste water. *Chemosphere*, 55(1), 46-141.
- [12] Vimal Chandra Pandey (2012). Phytoremediation of heavy metals from fly ash pond by *Azolla caroliniana*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 82, 8-12.
- [13] W.F. Reddy và Debusk K.R (1987). Growth and nutrient uptake potential of *Azolla caroliniana* Willd. and *Salvinia rotundifolia* Willd. as a function of temperature. *Environment and experiment Botany*, 27(2), 215-221.

A STUDY OF TOXICITY OF KALI DICROMAT IN *AZOLLA CAROLINIANA* WILLD., 1810

Abstract: This research presents results from a test for acute toxicity of the Kali dicromat solution on *Azolla* (*Azolla caroliniana* Willd) based on the OECD 221 guideline (Organization for Economic Co-operation and Development). The findings identified a chemical, its concentration and optimal sterilization time for cultivating azolla, which are NaOCl 0,05% and 20 seconds respectively. $EC_{50} = 8,92$ mg/L was determined according to fresh weight variables and 14,1 mg/L according to dry weight variables. And the correlation analysis showed that there was reverse correlation among the concentration of $K_2Cr_2O_7$, fresh weight variables and dry weight variables with a very high correlation coefficient ($r > 0,97$). This proves that *Azolla caroliniana* is sensitive to pollutants, which provides a platform for using azolla species to monitor ecotoxicity for water quality in Vietnam.

Key words: acute toxicity; ecological toxicity; *azolla caroliniana*; Kali dicromat.