

## MỤC LỤC

Trang bìa phụ

Lời cam đoan

Lời cảm ơn

Danh mục các ký hiệu, các chữ viết tắt

Danh mục các bảng biểu

Danh mục các hình vẽ, biểu đồ

## Lời cam đoan

Tôi xin cam đoan luận án Tiến sĩ: **“Nghiên cứu điều chế và khảo sát ảnh hưởng của dung dịch hoạt hóa plasma kết hợp khoáng đa lượng cho sự nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn đầu của xà lách xoăn (*Lactuca sativa* L.)”** là do tôi thực hiện với sự đồng ý và hướng dẫn của thầy PGS. TS. PHẠM HỮU THIÊN và thầy GS. TS. AHMED KHACEF.

Đây là nghiên cứu của riêng tôi và không trùng lặp với các công trình khoa học đã công bố. Số liệu, kết quả thực nghiệm, nguồn thông tin trong luận án hoàn toàn trung thực. Các trích dẫn thông tin trong luận án này có nguồn gốc rõ ràng.

Tôi xin chịu hoàn toàn trách nhiệm về những nội dung mà tôi đã trình bày ở luận án này.

TP. Hồ Chí Minh, ngày      tháng 04 năm 2023

Người cam đoan

**Thân Quốc An Hạ**

**Danh mục các ký hiệu, các chữ viết tắt**

ABA	: Abscisic acid
ATP	: Adenosine triphosphate
Ar	: Argon
DNA	: Deoxyribonucleic acid
DBD	: Dielectric Barrier Discharge
EDX	: Energy Dispersive X-ray Analysis
FTIR	: Fourier Transform Infrared Reflectance
GA	: Gibberellic acid
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hydrogen peroxide
He	: Helium
K	: Potassium
MAPK	: Mitogen Activated Protein Kinase.
mRNA	: Messenger Ribonucleic Acid
MIC	: Minimum Inhibitory Concentration
NTP	: Non-thermal Plasma
N	: Nitrogen
O <sub>2</sub>	: Oxygen
OES	: Optical emission spectroscopy
OPDA	: Oxo-phytodienoic acid
ORP	: Oxidation-Reduction Potentia
PAW	: Plasma Activated Water
pH	: Potential of Hydrogen
P	: Phosphorus

ROS	: Reactive Oxygen Species
RONs	: Reactive Oxygen and Nitrogen Species
RNS	: Reactive Nitrogen Species
SA	: Salicylic acid
UV	: Ultraviolet

**Danh mục các bảng biểu**

<i>Bảng 2.1.</i> Các hóa chất được sử dụng.....	33
<i>Bảng 2.2.</i> Các thiết bị, dụng cụ sử dụng .....	34
<i>Bảng 3.1.</i> Bảng giá trị hàm lượng ozone hòa tan của PAW theo thời gian .....	58
<i>Bảng 3.2.</i> Kết quả bán kính vòng kháng khuẩn các loại dung dịch tạo bởi plasma lạnh ở thời gian khác nhau .....	102
<i>Bảng 3.3.</i> Kết quả bán kính vòng kháng khuẩn các loại dung dịch tạo bởi plasma lạnh ở thời gian khác nhau .....	104

## Danh mục các hình vẽ, biểu đồ

<i>Hình 1.1.</i> Mô tả về quá trình chuyển nhiều pha của các loại oxy phản ứng (ROS) và các loại nitơ phản ứng (RNS) sang nước .....	4
<i>Hình 1.2.</i> Sơ đồ các hệ thống tạo PAW .....	5
<i>Hình 1.3.</i> Các ứng dụng của PAW .....	8
<i>Hình 1.4.</i> Mô hình phòng trừ bệnh hại cây trồng bằng plasma.....	11
<i>Hình 1.5.</i> Tiến trình thời gian của các sự kiện vật lý và trao đổi chất xảy ra trong quá trình nảy mầm và sự phát triển sớm của cây con .....	15
<i>Hình 1.6.</i> Mô hình thể hiện sự gia tăng mật độ các nhóm phân cực trên bề mặt hạt .....	22
<i>Hình 1.7.</i> Hạt, hoa, cây xà lách xoăn .....	29
<i>Hình 1.8.</i> Biểu hiện bệnh trên xà lách do <i>Xanthomonas</i> .....	32
<i>Hình 2.1.</i> Sơ đồ thiết lập hệ thống plasma corona .....	37
<i>Hình 2.2.</i> Sơ đồ thiết lập hệ thống plasma DBD.....	38
<i>Hình 2.3.</i> Bố trí các thiết bị đo các đặc trưng điện học của các hệ thống (1) Corona, (2) DBD với (a) máy hiện sóng oscilloscope (b) que đo áp (c) que đo dòng .....	39
<i>Hình 3.1.</i> Biểu đồ biểu diễn đặc trưng điện áp và dòng điện của hệ phóng plasma lạnh được sử dụng .....	48
<i>Hình 3.2.</i> Biểu đồ biểu diễn công suất tức thời và năng lượng của hệ phóng plasma lạnh được sử dụng .....	49
<i>Hình 3.3.</i> Biểu đồ biểu diễn giá trị pH của PAW với kiểu phóng và thời gian xử lý khác nhau cho đơn khí .....	50
<i>Hình 3.4.</i> Biểu đồ biểu diễn giá trị pH của PAW với kiểu phóng và thời gian xử lý khác nhau cho hỗn hợp khí .....	51
<i>Hình 3.5.</i> Đường cong Friedrich Paschen cho một số khí .....	52
<i>Hình 3.6.</i> Biểu đồ biểu diễn hàm lượng EC của PAW theo thời gian cho đơn khí ..	53

<i>Hình 3.7.</i> Biểu đồ biểu diễn hàm lượng EC của PAW theo thời gian cho hỗn hợp khí.....	54
<i>Hình 3.8.</i> Biểu đồ biểu diễn hàm lượng $\text{NO}_3^-$ của PAW theo thời gian cho đơn khí.....	55
<i>Hình 3.9.</i> Biểu đồ biểu diễn hàm lượng $\text{NO}_3^-$ của PAW theo thời gian cho hỗn hợp khí.....	55
<i>Hình 3.10.</i> Biểu đồ biểu diễn hàm lượng $\text{NO}_2^-$ của PAW theo thời gian cho đơn khí.....	56
<i>Hình 3.11.</i> Biểu đồ biểu diễn hàm lượng $\text{NO}_2^-$ của PAW theo thời gian cho hỗn hợp khí.....	57
<i>Hình 3.12.</i> Biểu đồ biểu diễn hàm lượng $\text{H}_2\text{O}_2$ của PAW theo thời gian cho đơn khí.....	57
<i>Hình 3.13.</i> Biểu đồ biểu diễn hàm lượng $\text{H}_2\text{O}_2$ của PAW theo thời gian cho hỗn hợp khí.....	58
<i>Hình 3.14.</i> Biểu đồ biểu diễn chiều dài phôi và trọng lượng nghìn hạt trong các mẫu xử lý $\text{H}_2\text{O}_2$ ở các hàm lượng khác nhau.....	60
<i>Hình 3.15.</i> Ảnh chiều dài phôi của các mẫu với hàm lượng $\text{H}_2\text{O}_2$ khác nhau sau 24 giờ.....	61
<i>Hình 3.16.</i> Biểu đồ biểu diễn tỷ lệ nảy mầm hạt trong các mẫu xử lý $\text{H}_2\text{O}_2$ ở các hàm lượng khác nhau .....	62
<i>Hình 3.17.</i> Ảnh chụp khả năng nảy mầm của mẫu 10 ppm $\text{H}_2\text{O}_2$ sau 5 ngày .....	62
<i>Hình 3.18.</i> Biểu đồ biểu diễn giá trị chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 5 ngày ở các hàm lượng $\text{H}_2\text{O}_2$ khác nhau. ....	63
<i>Hình 3.19.</i> Ảnh chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 5 ngày ở các hàm lượng $\text{H}_2\text{O}_2$ khác nhau. ....	64
<i>Hình 3.20.</i> Biểu đồ biểu diễn tỉ lệ trọng lượng khô/ tươi của các mẫu xử lý $\text{H}_2\text{O}_2$ ở các hàm lượng khác nhau.....	64

<i>Hình 3.21.</i> Biểu đồ biểu diễn hàm lượng diệp lục của các mẫu xử lý H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ở các hàm lượng khác nhau .....	65
<i>Hình 3.22.</i> Kết quả kháng <i>Xanthomonas</i> spp. ở 10 <sup>6</sup> của H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ở các hàm lượng 0 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 500 ppm, 1.000 ppm và 3.000 ppm sau 24h.....	66
<i>Hình 3.23.</i> Kết quả kháng nấm <i>Fusarium</i> spp. của H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ở các hàm lượng 50 ppm, 200 ppm, 1.000 ppm, sau 24h .....	67
<i>Hình 3.24:</i> Biểu đồ biểu diễn trọng lượng nghìn hạt và chiều dài phôi khi bổ sung các khoáng chất ở hàm lượng khác nhau .....	68
<i>Hình 3.25.</i> Ảnh chiều dài phôi khi bổ sung hàm lượng N từ 0 ppm đến 200 ppm sau 24 giờ.....	68
<i>Hình 3.26.</i> Ảnh chiều dài phôi khi bổ sung hàm lượng P từ 0 ppm đến 200 ppm sau 24 giờ.....	69
<i>Hình 3.27.</i> Ảnh chiều dài phôi khi bổ sung hàm lượng K từ 0 ppm đến 200 ppm sau 24 giờ.....	69
<i>Hình 3.28.</i> Sự biến đổi của hạt ở 80 ppm P thêm vào ở 0 giờ, 8 giờ và 24 giờ khảo sát .....	69
<i>Hình 3.29.</i> Biểu đồ biểu diễn tỷ lệ nảy mầm hạt trong các mẫu bổ sung N ở các hàm lượng .....	70
<i>Hình 3.30.</i> Biểu đồ biểu diễn giá trị chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 7 ngày ở các hàm lượng N .....	73
<i>Hình 3.31.</i> Ảnh chụp biểu diễn giá trị chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 5 ngày ở các hàm lượng N .....	73
<i>Hình 3.32.</i> Ảnh chụp biểu diễn giá trị chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 5 ngày ở các hàm lượng P .....	74
<i>Hình 3.33.</i> Ảnh chụp biểu diễn giá trị chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 5 ngày ở các hàm lượng K .....	75



<i>Hình 3.34.</i> Biểu đồ biểu diễn giá trị diện tích lá và hàm lượng chlorophyll khi bổ sung các khoáng chất ở hàm lượng khác nhau.....	75
<i>Hình 3.35.</i> Ảnh chụp biểu diễn sự phát triển lá của xà lách xoăn sau 7 ngày ở các hàm lượng N.....	76
<i>Hình 3.36.</i> Ảnh chụp biểu diễn sự phát triển lá của xà lách xoăn sau 7 ngày ở các hàm lượng P .....	76
<i>Hình 3.37.</i> Ảnh chụp biểu diễn sự phát triển lá của xà lách xoăn sau 7 ngày ở các hàm lượng K.....	77
<i>Hình 3.38.</i> Biểu đồ biểu diễn tỉ lệ trọng lượng khô/ tươi của các mẫu xử lý N ở các hàm lượng.....	78
<i>Hình 3.39.</i> Biểu đồ biểu diễn ảnh hưởng của PAW đến các chỉ số nảy mầm của hạt (chiều dài phôi được đo sau 24h và trọng lượng nghìn hạt sau 2 giờ ngâm) ở các mẫu được xử lý từ 0 đến 30 phút. ....	80
<i>Hình 3.40.</i> Biểu đồ biểu diễn chiều dài phôi đối với các điều kiện không và có PAW-15 kết hợp bổ sung hàm lượng N, P, K tăng dần từ 0 đến 200 ppm.....	81
<i>Hình 3.41.</i> Biểu đồ biểu diễn trọng lượng nghìn hạt đối với các điều kiện không và có PAW-15 kết hợp bổ sung hàm lượng N, P, K tăng dần từ 0 đến 200 ppm.....	82
<i>Hình 3.42.</i> Chiều dài phôi của hạt được xử lý bằng PAW-15 kết hợp N từ 0 ppm đến 200 ppm sau 24 giờ. ....	82
<i>Hình 3.43:</i> Biểu đồ biểu diễn tỷ lệ nảy mầm khi được bổ sung PAW trong 3 ngày đầu ở các khoảng thời gian khác nhau .....	84
<i>Hình 3.44.</i> Sự nảy mầm và phát triển thành cây con của hạt xà lách xoăn khi được bổ sung PAW-15 .....	84
<i>Hình 3.45.</i> Đồ thị biểu diễn tỷ lệ nảy mầm hạt của xà lách xoăn dưới tác động của đơn chất N kết hợp PAW ở các hàm lượng khác nhau .....	86
<i>Hình 3.46.</i> Hình ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của bề mặt hạt sau 2 giờ ngâm với nước cất (CTRL), PAW-15 và PAW-30.....	88

<i>Hình 3.47.</i> Ảnh soi nổi của hạt được ngâm bằng PAW-15 từ 0 giờ đến 48 giờ. ....	88
<i>Hình 3.48.</i> Biểu đồ biểu diễn chiều cao thân và chiều dài rễ của xà lách xoăn dưới tác động PAW ở các thời gian khác nhau .....	89
<i>Hình 3.49.</i> Hình ảnh cây con được thu hoạch vào ngày thứ 5 sau khi gieo dưới ảnh hưởng của PAW đối với sự phát triển của xà lách xoăn.....	90
<i>Hình 3.50.</i> Biểu đồ biểu diễn chiều cao thân và chiều dài rễ đối với các điều kiện không và có PAW-15 kết hợp bổ sung hàm lượng N, P, K tăng dần từ 0 đến 200 ppm.....	92
<i>Hình 3.51.</i> Hình ảnh cây con được thu hoạch vào ngày thứ 5 sau khi gieo dưới ảnh hưởng của PAW-15 kết hợp bổ sung hàm lượng N tăng dần từ 0 đến 200 ppm.....	93
<i>Hình 3.52.</i> Hình ảnh cây con được thu hoạch vào ngày thứ 5 sau khi gieo dưới ảnh hưởng của PAW-15 kết hợp bổ sung hàm lượng P tăng dần từ 0 đến 200 ppm.....	93
<i>Hình 3.53.</i> Hình ảnh cây con được thu hoạch vào ngày thứ 5 sau khi gieo dưới ảnh hưởng của PAW-15 kết hợp bổ sung hàm lượng K tăng dần từ 0 đến 200 ppm.....	93
<i>Hình 3.54.</i> Biểu đồ biểu diễn diện tích lá và hàm lượng chlorophyll của xà lách xoăn sau 7 ngày xử lý bằng PAW ở thời gian hoạt hóa khác nhau .....	95
<i>Hình 3.55.</i> Hình ảnh sự ảnh hưởng của PAW đối với diện tích lá của xà lách xoăn.	96
<i>Hình 3.56.</i> Biểu đồ biểu diễn diện tích lá và hàm lượng chlorophyll của xà lách xoăn dưới tác động PAW kết hợp N, P, K ở các hàm lượng khác nhau.....	97
<i>Hình 3.57.</i> Ảnh hưởng của PAW đến (a) diện tích lá và (b) hàm lượng chlorophyll của lá ở ngày thứ 7 sau khi gieo ở các hàm lượng N kết hợp PAW khác nhau.....	98
<i>Hình 3.58.</i> Ảnh hưởng của PAW đến diện tích lá xà lách xoăn ở ngày thứ 7 sau khi gieo ở các hàm lượng P kết hợp PAW khác nhau.....	98
<i>Hình 3.59.</i> Ảnh hưởng của PAW đến (a) diện tích lá và (b) hàm lượng chlorophyll của lá ở ngày thứ 7 sau khi gieo ở các hàm lượng K kết hợp PAW khác nhau.....	98
<i>Hình 3.60.</i> Biểu đồ biểu diễn tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi của xà lách xoăn ở ngày thứ 7 sau khi gieo giống như hàm của thời gian xử lý plasma .....	99

- Hình 3.61.* Biểu đồ biểu diễn tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi của xà lách xoăn dưới tác động của các mẫu PAW có bổ sung khoáng chất ..... 100
- Hình 3.62.* Ảnh chụp các đĩa thạch có chứa mẫu đối chứng và các dung dịch tạo bởi plasma lạnh ở thời gian khác nhau với *Xanthomonas* spp..... 102
- Hình 3.63.* Ảnh chụp các đĩa thạch có chứa mẫu đối chứng và các dung dịch tạo bởi plasma lạnh ở thời gian khác nhau với nấm *Fusarium* spp ..... 103

## MỞ ĐẦU

### CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

<b>1.1. Tổng quan về nước hoạt hóa plasma cho cây trồng .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1.1. Khái niệm .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1.2. Tính chất – Đặc trưng của PAW .....</b>	<b>5</b>
1.1.2.1. Giá trị pH.....	5
1.1.2.2. Độ dẫn điện.....	5
1.1.2.3. Hydro peroxide .....	6
1.1.2.4. Hàm lượng các ion nitrite ( $NO_2^-$ ) và nitrate ( $NO_3^-$ ).....	7
<b>1.1.3. Ứng dụng của PAW trong nông nghiệp .....</b>	<b>7</b>
1.1.3.1. PAW cho xử lý hạt giống.....	8
1.1.3.2. PAW thúc đẩy sự phát triển của thực vật .....	10
1.1.3.3. PAW kiểm soát dịch bệnh và sâu bệnh .....	10
<b>1.2. Tình hình nghiên cứu về nước hoạt hóa plasma cho cây trồng .....</b>	<b>11</b>
<b>1.2.1. Tình hình nghiên cứu ngoài nước .....</b>	<b>11</b>
1.2.1.1. PAW tăng cường nảy mầm ở hạt giống.....	11
1.2.1.2. PAW thúc đẩy sự phát triển của thực vật .....	12
<b>1.2.2. Tình hình nghiên cứu trong nước .....</b>	<b>13</b>
<b>1.3. Vai trò của chất oxi hóa và khoáng đa lượng cho cây trồng.....</b>	<b>14</b>
<b>1.3.1. Quá trình nảy mầm.....</b>	<b>14</b>
1.3.1.1. Nguyên lý của sự nảy mầm hạt .....	14
1.3.1.2. Đo lường sự nảy mầm.....	15
1.3.1.3. Sự hút nước của hạt .....	16
1.3.1.4. Tổng hợp RNA và protein .....	18

<b>1.3.2. Quá trình sinh trưởng .....</b>	<b>19</b>
1.3.2.1. Nguyên lý của sự sinh trưởng .....	19
1.3.2.2. Khả năng thấm ướt, nảy mầm, sự phát triển cây con và hoạt động của enzyme .....	20
<b>1.3.3. Vai trò của <math>H_2O_2</math>.....</b>	<b>24</b>
<b>1.3.4. Vai trò của nguyên tố đa lượng N, P, K .....</b>	<b>24</b>
<b>1.4. Tổng quan về <i>Lactuca sativa</i> L.....</b>	<b>28</b>
1.4.1. Giới thiệu chung.....	28
1.4.2. Đặc tính của xà lách xoăn .....	29
1.4.3. Bệnh và sâu hại chính trên xà lách xoăn.....	31

## CHƯƠNG 2. THỰC NGHIỆM

<b>2.1. Hóa chất, nguyên liệu, dụng cụ, thiết bị thực nghiệm .....</b>	<b>33</b>
2.1.1 Hóa chất, nguyên liệu .....	33
2.1.2. Thiết bị - Dụng cụ.....	34
<b>2.2. Xây dựng hệ phát plasma theo 2 kiểu phóng và đặc trưng điện học của chúng .....</b>	<b>36</b>
2.2.1. Nguồn phát plasma.....	36
2.2.2. Hệ phát plasma kiểu phóng trực tiếp (corona) .....	36
2.2.3. Hệ phát plasma kiểu phóng gián tiếp qua lớp điện môi .....	37
2.2.4. Đặc trưng điện học của hệ thống phát plasma .....	38
2.2.4.1 Giới thiệu chung.....	38
2.2.4.2. Phương pháp đo đặc trưng điện của hệ phát plasma .....	39
<b>2.3. Chế tạo và khảo sát các đặc trưng lý hóa của các mẫu PAW .....</b>	<b>39</b>

<b>2.3.1. Kiểu phóng DBD.....</b>	<b>39</b>
<b>2.3.2. Kiểu phóng Corona .....</b>	<b>40</b>
<b>2.3.3. Khảo sát đặc trưng lý hóa của các mẫu PAW.....</b>	<b>40</b>
2.3.3.1. Giá trị pH.....	40
2.3.3.2. Độ dẫn điện.....	40
2.3.3.3. Nồng độ ion $NO_2^-$ , $NO_3^-$ .....	40
2.3.3.4. Nồng độ $H_2O_2$ .....	40
2.3.3.5. Nồng độ $O_3$ .....	40
<b>2.4. Chế tạo các mẫu chứa <math>H_2O_2</math>, N, P, K, PAW và PAW kết hợp N, P, K .....</b>	<b>40</b>
<b>2.5. Thông số đánh giá quá trình nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn sớm của xà lách xoăn .....</b>	<b>41</b>
<b>2.5.1. Thông số đánh giá quá trình nảy mầm .....</b>	<b>42</b>
2.5.1.1. Trọng lượng nghìn hạt.....	42
2.5.1.2. Chiều dài phôi.....	42
2.5.1.3. Tỷ lệ nảy mầm hạt .....	42
<b>2.5.2. Thông số đánh giá quá trình sinh trưởng giai đoạn sớm .....</b>	<b>43</b>
2.5.2.1. Chiều cao thân và chiều dài rễ.....	43
2.5.2.2. Hàm lượng diệp lục ( <i>Chlorophyll</i> ).....	43
2.5.2.3. Tỷ lệ trọng lượng tươi/ khô .....	44
2.5.2.4. Diện tích lá.....	44
2.5.2.5. Ảnh hình thái.....	45
<b>2.6. Khảo sát ảnh hưởng của <math>H_2O_2</math>, N, P, K đối với quá trình nảy mầm và sinh trưởng ban đầu của xà lách xoăn.....</b>	<b>45</b>
<b>2.7. Khảo sát ảnh hưởng của PAW và PAW kết hợp với các khoáng đa lượng N, P, K cho quá trình nảy mầm và sinh trưởng .....</b>	<b>45</b>

<b>2.8. Khảo sát khả năng kháng khuẩn, kháng nấm.....</b>	<b>46</b>
<b>2.8.1. Phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) .....</b>	<b>46</b>
<b>2.8.2. Phương pháp đo đường kính vòng kháng khuẩn.....</b>	<b>46</b>
<b>2.9. Tính toán và xử lý số liệu.....</b>	<b>47</b>

### **CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

<b>3.1. Đánh giá về đặc trưng điện học của hệ plasma .....</b>	<b>48</b>
<b>3.2. Mối quan hệ giữa tính chất lý hóa của mẫu nước và kiểu phóng.....</b>	<b>49</b>
<b>3.2.1. Giá trị pH .....</b>	<b>49</b>
<b>3.2.2. Nồng độ EC và nhiệt độ .....</b>	<b>52</b>
<b>3.2.3. Các ion <math>NO_3^-</math>, <math>NO_2^-</math>, <math>H_2O_2</math>, <math>O_3</math>.....</b>	<b>54</b>
<b>3.3. Cơ sở lựa chọn các mẫu PAW định hướng ứng dụng cho nghiên cứu .....</b>	<b>59</b>
<b>3.4. Khảo sát ảnh hưởng của <math>H_2O_2</math>, N, P, K đối với quá trình nảy mầm và sinh trưởng.....</b>	<b>60</b>
<b>3.4.1. Ảnh hưởng của chất oxi hóa <math>H_2O_2</math>.....</b>	<b>60</b>
3.4.1.1. Quá trình nảy mầm .....	60
3.4.1.2. Quá trình sinh trưởng giai đoạn đầu.....	63
3.4.1.3. Khả năng kháng khuẩn và nấm.....	66
<b>3.4.2. Ảnh hưởng của các khoáng đa lượng N, P, K đến quá trình nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn sớm .....</b>	<b>67</b>
3.4.2.1. Quá trình nảy mầm .....	67
3.4.2.2. Quá trình sinh trưởng giai đoạn đầu .....	72
3.4.2.3. Nhận xét chung .....	79
<b>3.5. Khảo sát ảnh hưởng của PAW và PAW kết hợp khoáng đa lượng N, P, K đối với quá trình nảy mầm và sinh trưởng.....</b>	<b>79</b>

<b>3.5.1. Quá trình nảy mầm.....</b>	<b>79</b>
3.5.1.1. Ảnh hưởng của PAW và PAW kết hợp khoáng đa lượng N, P, K cho chiều dài phôi và trọng lượng hạt.....	79
3.5.1.2. Ảnh hưởng của PAW và PAW kết hợp khoáng đa lượng N, P, K cho tốc độ nảy mầm .....	83
3.5.1.3. Ảnh hưởng của PAW đến sự thay đổi hình thái của hạt .....	87
<b>3.5.2. Quá trình sinh trưởng giai đoạn đầu của hạt.....</b>	<b>89</b>
3.5.2.1. Sự phát triển chiều cao thân - chiều dài rễ của cây .....	89
3.5.2.2. Diện tích lá và hàm lượng diệp lục.....	94
3.5.2.3. Tỷ lệ trọng lượng tươi/ khô .....	98
<b>3.5.3. Nhận xét chung .....</b>	<b>101</b>
<b>3.5.4. Khả năng kháng khuẩn - kháng nấm của PAW.....</b>	<b>101</b>
3.5.4.1. Kháng khuẩn .....	101
3.5.4.2. Kháng nấm .....	103

## **KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ**

<b>Kết luận .....</b>	<b>106</b>
<b>Kiến nghị.....</b>	<b>107</b>
<b>Những đóng góp mới của luận án.....</b>	<b>108</b>

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

## **DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ**





## MỞ ĐẦU

### Tính cấp thiết của luận án

Năng suất cây trồng luôn là một trong những vấn đề quan trọng nhất của nền nông nghiệp. Năng suất cây trồng trước tiên phụ thuộc lớn vào chất lượng giống ban đầu. Ngoài ra còn có các yếu tố trực tiếp, quyết định khác như điều kiện môi trường, bón phân, dùng thuốc bảo vệ trước các tác động bên ngoài... Để nâng cao năng suất cây trồng, bên cạnh việc cải tạo giống, chúng ta còn cần đặc biệt quan tâm đến các giải pháp nhằm tăng tỷ lệ nảy mầm, tăng khả năng sinh trưởng của hạt và các yếu tố đảm bảo sự phát triển của cây trong suốt quá trình trồng trọt.

Các phương pháp truyền thống được sử dụng để cải thiện năng suất cây trồng là tăng cường bón phân, sử dụng thuốc bảo vệ thực vật và chú trọng công tác thủy lợi. Tuy nhiên, các phương pháp trên đều có những bất lợi như tăng chi phí thực tế và làm ô nhiễm môi trường.

Xu hướng hiện nay là áp dụng các công nghệ mới để cải thiện năng suất mà không để lại dư lượng hóa học, không gây biến đổi thành phần của sản phẩm và có tác động xấu đến sức khỏe con người. Một trong những hướng nghiên cứu mới hiện nay là dùng các kỹ thuật vật lý để xử lý hạt nhằm cải thiện và làm tăng khả năng, tỷ lệ nảy mầm của chúng như chiếu xạ, tia UV, plasma... Trong đó, công nghệ plasma được sự chú ý nhiều bởi khả năng hỗ trợ nảy mầm và sinh trưởng, cung cấp thêm dinh dưỡng cho cây trồng. Trong lĩnh vực nông nghiệp có vài nghiên cứu trên thế giới đã chỉ ra sự tương tác của nước hoạt hóa plasma (PAW - Plasma Activated Water) với nảy mầm, sinh trưởng cho một số loại cây trồng, nhưng những nghiên cứu này còn rời rạc, chưa đánh giá tác động của quá trình điều chế plasma, các thông số lý hóa đi kèm. Do đó việc nghiên cứu để hệ thống hóa và làm rõ hơn các vấn đề này là cần thiết. Mặt khác, những nghiên cứu về tác động của việc sử dụng các khoáng chất thiết yếu nitrogen (N), phosphorus (P), potassium (K) trong giai đoạn đầu của sự sinh trưởng cây trồng vẫn chưa được đề cập sâu và chỉ ra được liệu nên hoặc không nên sử dụng N, P, K trong giai đoạn này.

Việc từng bước làm sáng tỏ, hoàn thiện và áp dụng công nghệ mới, công nghệ plasma lạnh, tại Việt Nam, nước có nền nông nghiệp đặc thù, là điều cần thiết

và có ý nghĩa. Trên cơ sở đó, câu hỏi đặt ra là liệu PAW có thể tác động và làm thay đổi quá trình nảy mầm - sinh trưởng trong giai đoạn đầu hay không? Thêm vào đó nếu kết hợp bổ sung các nguyên tố thiết yếu cho cây trồng như khoáng chất N, P, K vào PAW có làm cho các quá trình trên được tốt hơn không?

Việc nghiên cứu thành công các vấn đề đặt ra ở trên là rất cần thiết. Trên cơ sở đó, chúng tôi thực hiện nghiên cứu luận án với chủ đề “**Nghiên cứu điều chế và khảo sát ảnh hưởng của dung dịch hoạt hóa plasma kết hợp khoáng đa lượng cho sự nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn đầu của xà lách xoăn (*Lactuca sativa* L.)**”. Kết quả của luận án sẽ góp phần phát triển một hướng nghiên cứu mới, có ý nghĩa khoa học và thực tiễn, an toàn cho cây trồng, con người, vật nuôi, môi trường. Bên cạnh đó, luận án cũng sẽ góp phần làm cơ sở cho các nghiên cứu triển khai thực tế sau này.

## **Mục tiêu - Nội dung nghiên cứu**

### ***Mục tiêu***

Nghiên cứu điều chế và khảo sát ảnh hưởng của dung dịch hoạt hóa plasma kết hợp khoáng đa lượng cho sự nảy mầm hạt và sinh trưởng trong giai đoạn đầu của xà lách xoăn (*Lactuca sativa* L.).

### ***Nội dung nghiên cứu***

Nội dung 1: Nghiên cứu thành phần, nồng độ và tính chất của các mẫu nước hoạt hóa plasma (PAW) trên hai kiểu phóng plasma khác nhau: Trực tiếp (corona) và gián tiếp (Dielectric Barrier Discharge – DBD).

Nội dung 2: Khảo sát ảnh hưởng của H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> và các khoáng chất N, P, K đối với quá trình nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn đầu của xà lách xoăn.

Nội dung 3: Khảo sát ảnh hưởng của PAW và PAW kết hợp với các khoáng chất N, P, K đối với quá trình nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn đầu của xà lách xoăn.

### ***Đối tượng nghiên cứu***

Xà lách xoăn *Lactuca sativa* L.

## CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

### 1.1. Tổng quan về nước hoạt hóa plasma cho cây trồng

#### 1.1.1. Khái niệm

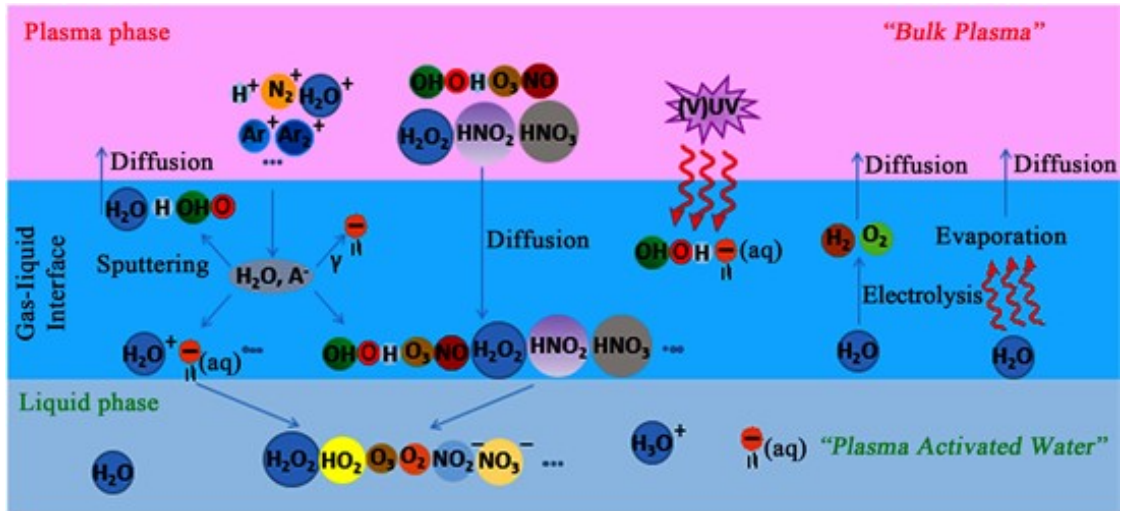
Vật chất thông thường tồn tại ở ba dạng, đó là rắn, lỏng, khí. Plasma thường được gọi là "trạng thái thứ tư của vật chất". Trong trạng thái này, vật chất thông thường tồn tại ở dạng ion hóa, các electron tự do, các nguyên tử và phân tử trung tính [1]. Trong tự nhiên, hiện tượng plasma thường có trong tia sét, quá trình phun trào núi lửa, cực quang... Trong đời sống hàng ngày, plasma thường thấy trong các thiết bị thông dụng như ti vi plasma, máy cắt plasma...

Plasma được phân làm 02 dạng là plasma nóng (plasma nhiệt - thermal plasma) và plasma lạnh (plasma nguội - non-thermal plasma). Đối với plasma nóng, nhiệt độ của electron cân bằng với nhiệt độ của ion và nhiệt độ của chất khí. Plasma lạnh là dạng plasma ở trạng thái không cân bằng nhiệt, sinh năng lượng ở điện tử tự do, do đó tạo nên các điện tử năng lượng cao (10.000 Kelvins), nhưng các ion và nguyên tử trung hòa vẫn ở nhiệt độ phòng. Vì điều kiện thí nghiệm của plasma lạnh là ở nhiệt độ thấp (không cao hơn nhiều so với nhiệt độ phòng) nên các thí nghiệm có thể được bố trí ứng dụng trên hạt giống. Ngoài ra, các hệ thống plasma lạnh thường có phí bảo dưỡng và chi phí sử dụng năng lượng thấp [1, 2].

Tùy thuộc vào môi chất mà plasma có thể sinh ra các chất khác nhau. Ví dụ trong môi trường không khí, plasma hình thành nên các chất như sau: Tia UV, các hợp chất không bền ( $O^*$ ,  $H^*$ ), các hợp chất có độ bền cao như  $O_3$ ,  $H_2O_2$ ... Trong dạng plasma khí – lỏng, có sự tham gia của một số hiện tượng hóa lý liên quan đến sự va chạm của các hạt khí, chuyển khối, phun xạ và quang phân được hình thành thông qua các photon UV. Theo đó, một phần các hoạt chất được sinh ra ban đầu trong plasma pha khí sẽ đến được phần giao diện của plasma lỏng, đi vào giao diện khí-lỏng và sau đó phản ứng với các phân tử nước (Hình 1.1). Nhờ vào các thành phần này mà PAW có hoạt tính cao, ứng dụng được trong nhiều lĩnh vực khác nhau.

Plasma lỏng (tiếp xúc với chất lỏng) được quan tâm nhiều bởi khả năng ứng dụng rộng rãi vì chúng tạo ra gốc oxy hóa tự do và gốc N tự do (RNS), là tác nhân hiệu quả chống lại nhiều tác nhân sinh học và hóa học, vì vậy chúng phù hợp cho

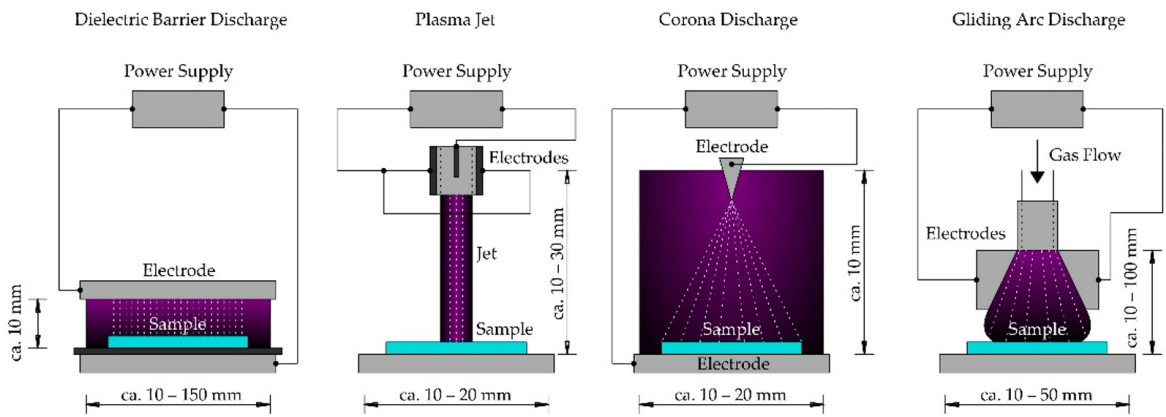
các ứng dụng rộng rãi như y sinh, môi trường, khoa học nano và nông nghiệp [1,3,4]. Trong nông nghiệp, khí plasma thường được dùng để tác động lên hạt nhằm tăng cường khả năng nảy mầm, nước plasma thường được tận dụng bởi quá trình thẩm thấu hạt nhằm điều khiển kể cả quá trình sinh trưởng của hạt và cây [4].



Hình 1.1. Mô tả về quá trình chuyển nhiều pha của các loại oxy phản ứng (ROS) và các loại nitơ phản ứng (RNS) sang nước

(Nguồn: R. Zuo, [1])

PAW là sản phẩm của quá trình tương tác của tia plasma với chất lỏng. PAW phụ thuộc vào các thông số điện hình như nguồn cung cấp năng lượng plasma, loại khí mang, cấu hình điện cực, điện áp ứng dụng, thời gian xử lý, lưu lượng khí, thể tích dung dịch, khoảng cách giữa điện cực và bề mặt chất lỏng, thành phần của dung dịch... Cách thức plasma được tạo ra trong pha khí tiếp xúc với chất lỏng (nghĩa là trong dạng có sẵn, trên bề mặt chất lỏng hoặc khi chất lỏng ở dạng tia nước và giọt nhỏ) ảnh hưởng đáng kể đến thành phần hóa học của các loài được sản xuất trực tiếp trong chất lỏng, do cường độ phân hủy khác nhau trong pha khí và dung dịch. Tùy theo kiểu tương tác mà có thể phân loại một số phương pháp để tạo PAW từ các loại khí khác nhau như (i) phóng điện qua rào cản điện môi, (ii) phóng tia plasma, (iii) phóng điện plasma corona, (iv) phóng điện hồ quang trượt, v.v. (Hình 1.2). Khí làm việc thường được sử dụng bao gồm không khí, oxygen, nitrogen, helium, argon hoặc hỗn hợp của chúng [3].



Hình 1.2. Sơ đồ các hệ thống tạo PAW

(Từ trái sang: Phóng điện plasma DBD, phóng tia plasma, phóng điện plasma corona, phóng điện hồ quang trượt)

(Nguồn: H. Zeghroud, [3])

### 1.1.2. Tính chất – Đặc trưng của PAW

#### 1.1.2.1. Giá trị pH

pH là thước đo môi trường của dung dịch. Từ giá trị pH có thể cho biết được các hợp chất có trong dung dịch. Trong PAW, giá trị acid của nước được hình thành từ các hợp chất của khí plasma với nước. Thông thường, độ pH của PAW giảm mạnh khi thời gian xử lý tăng lên do sự hình thành các hợp chất có tính acid. Các nghiên cứu gần đây [4- 9] đã chỉ ra giá trị pH của mẫu PAW có thể thay đổi tùy thuộc vào thời gian tiếp xúc và thành phần khí đầu vào. Giá trị này được tạo ra bởi các chất có tính acid như hydrogen peroxide, nitrite acid và peroxyxynitrous acid. Cụ thể, với khí đầu vào là argon (Ar) thì không có sự thay đổi đáng kể về độ pH, trong khi đó với khí đầu vào là oxygen và không khí thì giá trị pH đã giảm mạnh tương ứng là 2,01 và 2,07. Một nghiên cứu khác cũng cho thấy, các thành phần tạo ra giá trị pH có tác động mạnh đến việc khử trùng, kháng khuẩn, kích thích nảy mầm và sinh trưởng cây trồng [9].

#### 1.1.2.2. Độ dẫn điện

Độ dẫn điện là thước đo khả năng của nước tạo điều kiện cho dòng điện chạy qua nó. Sự hiện diện của các hợp chất trong nước tác động rất lớn đến độ dẫn điện. Trong PAW, các hợp chất có tính ion được tạo ra làm thay đổi độ dẫn điện. Các ion

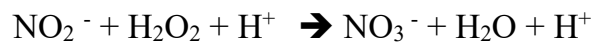
này là ROS và RNS trong quá trình hoạt hóa plasma trong dung dịch sẽ góp phần làm tăng độ dẫn điện của PAW. Sự gia tăng độ dẫn điện của PAW do sự hình thành NOx khi phun nước trực tiếp vào vùng plasma [10, 11]. Độ dẫn điện thường được đo bằng micromhos trên cm hoặc microsiemens ( $\mu\text{S}$ ) trên cm và độ dẫn của nước cất thay đổi trong khoảng từ 0,5 đến 3  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Nghiên cứu của cho thấy độ dẫn điện của nước cất là 30  $\mu\text{S}/\text{cm}$  khi kích hoạt bằng plasma với hỗn hợp khí Ar/O<sub>2</sub> chỉ trong 5 phút, trong khi nước chưa qua xử lý có độ dẫn là 1,61  $\mu\text{S}/\text{cm}$  [6]. Trong một nghiên cứu khác, PAW được tạo ra khi sử dụng khí đầu vào là He thêm 0.2% N<sub>2</sub>, đã cho thấy sự gia tăng tuyến tính về độ dẫn điện từ 286  $\mu\text{S}/\text{cm}$  đến 790  $\mu\text{S}/\text{cm}$  (sau 10 phút xử lý); đối với khí đầu vào là He thêm 0.2% O<sub>2</sub>, giá trị độ dẫn điện cũng gia tăng tuyến tính v từ 496 đến 995  $\mu\text{S}/\text{cm}$   $\mu\text{S}/\text{cm}$  (sau 10 phút xử lý) [12].

#### 1.1.2.3. *Hydro peroxide*

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> là ROS được hình thành trong PAW, đóng một vai trò quan trọng trong các đặc tính kháng khuẩn của PAW. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy các quá trình hóa học diễn ra với sự hình thành H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> và tầm quan trọng của nó đối với việc kháng khuẩn của PAW. Trong môi trường acid, nồng độ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> cùng với anion superoxide đóng góp vào phần quan trọng nhất của tính chất oxy hóa của PAW [8]. Các tính toán về hóa học chất lỏng đã giải thích rằng tất cả các gốc OH bị hấp phụ sẽ được chuyển đổi thành H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> và do đó H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> được tạo thành trong pha khí sẽ được vận chuyển đến các chất lỏng [14]. Trong các nghiên cứu khác, nồng độ của H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hình thành trong PAW được ước tính là 22,4  $\mu\text{M}$  sau 20 phút kích hoạt plasma với không khí [9]. Nồng độ của H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> phụ thuộc vào độ dẫn điện của nước sau khi phóng điện. Tuy nhiên, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> được coi là sản phẩm cuối ổn định trong nước và có thời gian bán hủy trong khoảng 8 giờ đến 20 ngày [11]. Các tác giả cũng đã tiến hành xác định sự phân hủy của H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> trong PAW tại các thời điểm khác nhau: Sau 25 phút kích hoạt, nồng độ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giảm xuống còn khoảng 110  $\mu\text{M}$ . Sự hình thành nitrate từ phản ứng giữa nitrite và hydrogen peroxide trong quá trình sau khi phóng plasma có thể là một trong những lý do làm giảm nồng độ hydrogen peroxide [9, 11, 13].

#### 1.1.2.4. *Nồng độ các ion nitrite (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) và nitrate (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)*

Việc phát hiện các ion nitrite và nitrate trong PAW là bằng chứng chính cho sự hình thành RNS và nhiều nhà nghiên cứu đã quan tâm đến việc diệt vi sinh vật trong những năm gần đây. Các ion nitrate tồn tại lâu dài trong PAW được hình thành như các sản phẩm thứ cấp và diệt vi khuẩn trong quá trình bảo quản. Các phản ứng sau phóng điện giữa NO<sub>2</sub><sup>-</sup> và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> xảy ra trong PAW dẫn đến sự hình thành peroxy nitrite có đặc tính diệt vi khuẩn đáng kể. Giống như ROS, nồng độ NO<sub>3</sub><sup>-</sup> và NO<sub>2</sub><sup>-</sup> giảm khi tăng thời gian bảo quản [9, 13]. Các nitrite oxide được hình thành thông qua sự phân ly của N<sub>2</sub> và O<sub>2</sub> trong plasma không khí phản ứng với nước và dẫn đến sự hình thành các ion nitrite và các ion nitrite này phản ứng với H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> để tạo thành các ion nitrate. Các tác giả đã đề xuất một phản ứng hình thành nitrat như sau [11, 13]:

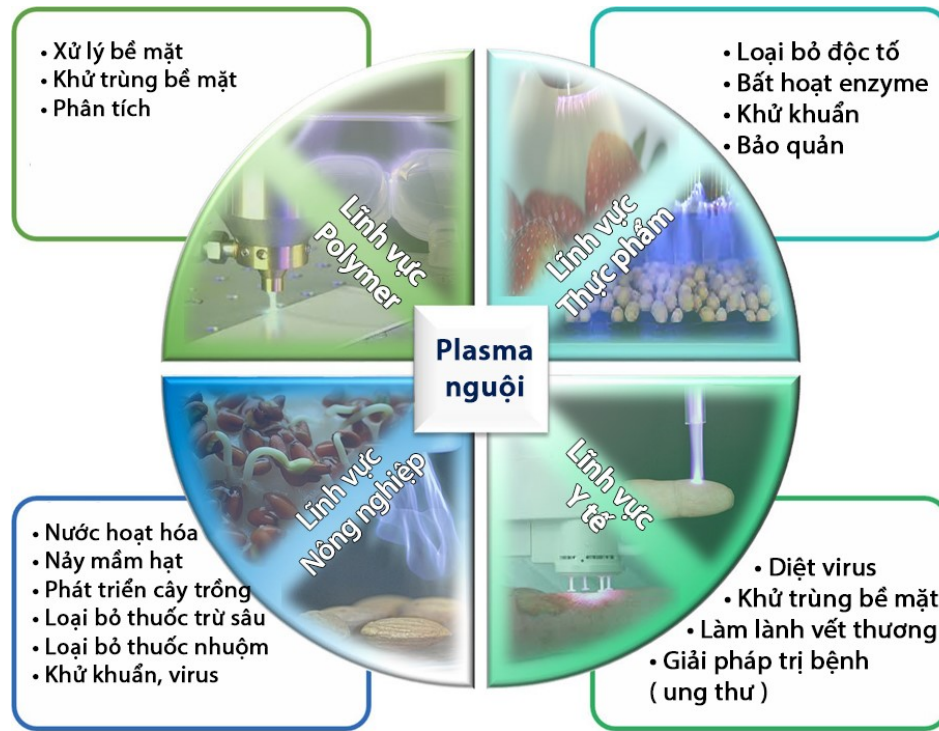


Trước đây đã có báo cáo rằng nồng độ của các ion nitrate và nitrite là 113 mg/L và 1,5 mg/L sau 30 phút kích hoạt PAW bằng cách dùng plasma DBD với oxy [11]. Sự phóng điện của plasma trên bề mặt nước và trực tiếp bên trong nước dẫn đến nồng độ nitrate và nitrite khác nhau được hình thành trong PAW khi sử dụng plasma với hỗn hợp khí Ar/O<sub>2</sub> được trộn sẵn. Nồng độ nitrate và nitrite hình thành trong PAW được tạo ra do xả trực tiếp trong nước cao hơn một chút so với nồng độ được tạo ra trên bề mặt nước [8].

#### 1.1.3. *Ứng dụng của PAW trong nông nghiệp*

PAW đã nhận được sự quan tâm đáng kể từ các nhà nghiên cứu trong những năm gần đây do không sinh nhiệt, không độc hại, diệt vi khuẩn... ứng dụng trong y sinh, thực phẩm, xử lý môi trường, khoa học nano và đặc biệt là cải thiện các vấn đề về thực hành nông nghiệp sạch, một xu hướng tất yếu hiện nay (Hình 1.3).





Hình 1.3. Các ứng dụng của PAW

(Ảnh tự thực hiện)

Một trong những nguyên nhân chính của sự nảy mầm thấp là do ô nhiễm hạt giống và đất với vi sinh vật. PAW có thể được sử dụng như một chất kích thích thân thiện với môi trường để cải thiện khả năng nảy mầm của hạt, tốc độ sinh trưởng và năng suất của cây trồng. PAW có tác dụng hiệp đồng trong việc khử khuẩn và cũng thúc đẩy sự phát triển của hạt giống. Sự gia tăng các ion nitrate và nitrite trong PAW có thể là nguyên nhân chính làm tăng sự phát triển của thực vật. Ngâm hạt trong PAW không chỉ có tác dụng kháng khuẩn mà còn tăng cường khả năng nảy mầm của hạt và sự phát triển của cây. PAW có khả năng có thể được sử dụng để tăng năng suất cây trồng và chống lại các điều kiện môi trường bất lợi, cụ thể như sau:

#### 1.1.3.1 PAW cho xử lý hạt giống

Trong nghiên cứu của N. Yemeli và cộng sự [15], hiệu quả của PAW lên sinh trưởng và phát triển của cây lúa mạch và cây ngô đã được nghiên cứu với kết quả sau 4 tuần sinh trưởng, tác động của PAW được phân tích bằng cách đo các thông số sinh lý và sinh trưởng của cây: Chiều dài và trọng lượng tươi của cây, nồng độ sắc tố quang hợp và tốc độ quang hợp, tổng số protein hòa tan, hoạt động

của enzyme chống oxy hóa và tổn thương DNA. Kết quả sự gia tăng hàm lượng protein trong ngô và lúa mạch có thể là kết quả của sự hiện diện của nitrat trong dung dịch tưới PAW. Tưới cây bằng PAW làm tăng các thông số sinh lý, ví dụ như sắc tố quang hợp và protein hòa tan mà không làm hỏng DNA. Vì PAW làm tăng trọng lượng của cây nên các phương pháp xử lý PAW có thể được áp dụng để cải thiện năng suất cây trồng. PAW có thể được kết hợp trong nông nghiệp để tăng cường sự phát triển của cây con và thu hoạch cây trồng. Ngoài ra, tùy thuộc vào thành phần hóa học có trong PAW, có khả năng cải thiện sự phát triển của cây và ảnh hưởng đến các thông số sinh lý, trong khi không gây ra tổn thương DNA có hại.

Trong nghiên cứu của nhóm L. Sivachandiran và A. Khacef [16], 2 hệ thống PAW đã được dùng cho hoạt hóa nước để xử lý hạt giống. Ảnh hưởng của PAW đến sự nảy mầm và sự phát triển của hạt củ cải, cà chua và hạt tiêu đã được nghiên cứu. Hạt giống các mẫu được chia thành ba nhóm: Hạt được xử lý bằng plasma trong 10 và 20 phút và đối chứng. Các mẫu được tưới bằng nước máy và nước kích hoạt plasma (PAW-15 và PAW-30) được xử lý trong 15 phút và 30 phút mỗi 24 giờ. Kết quả ấn tượng cho thấy, sau 1 ngày gieo hạt củ cải, tỷ lệ nảy mầm là 40% cho mẫu đối chứng và tỷ lệ nảy mầm từ 60% đến 100% cho các mẫu xử lý bằng PAW. Sau ba ngày, chiều dài cây con của hạt củ cải được tưới bằng PAW-30 là 15 mm, và chiều dài của các mẫu được tưới bằng PAW-15 là 5 mm. Hạt cà chua được xử lý trong 10 phút với plasma và tưới bằng PAW-15 trong 9 ngày và sau đó tưới trong 51 ngày với nước máy, chiều dài tăng so với kiểm soát khoảng 60%. Không giống như hạt cà chua, hạt tiêu được xử lý bằng PAW-30 cho thấy sự sinh trưởng nhiều hơn.

S.A. Sajib và cộng sự [17] đã nghiên cứu hiệu quả của PAW lên nảy mầm và sinh trưởng của hạt đậu đen trong 3 đến 15 phút. Mẫu hạt có xử lý PAW cho tỷ lệ nảy mầm cao hơn. Sau 3 phút ngâm trong PAW, hạt có chỉ số sức sống tốt nhất trong khi ngâm hạt với PAW trong 6 phút thì cho chỉ số nảy mầm cao nhất. Hạt được xử lý PAW từ 3 đến 6 phút có chồi và rễ dài hơn so với đối chứng. Đặc biệt, với mẫu xử lý PAW trong 6 phút đã làm tăng hàm lượng diệp lục tăng 23,8%, lượng protein hòa tan trong lá và rễ tăng cao lần lượt là 33,28% và 19,18%.

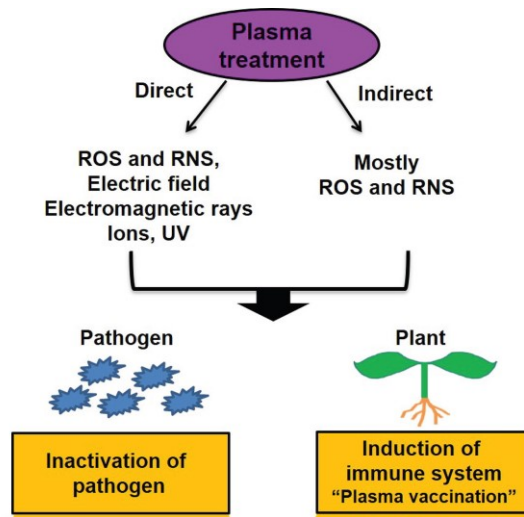
### 1.1.3.2. PAW thúc đẩy sự phát triển của thực vật

Nghiên cứu của S.A. Sajib và cộng sự [17] trên đậu đen về khả năng sinh trưởng cho thấy những thay đổi đáng kể đã được quan sát thấy trong hạt, lá và rễ. Sự gia tăng catalase cũng được quan sát thấy trong rễ của cây trồng từ hạt được xử lý PAW trong 3 và 6 phút phù hợp với quá trình tái điều hòa của gen VmCAT. Điều này cho thấy rằng PAW có liên quan đến lượng H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tăng cao trong đậu đen do đó dẫn đến tăng khả năng nảy mầm, sinh trưởng và phát triển. Những phát hiện này cho thấy lợi ích của PAW đối với sản xuất cây trồng được nâng cao.

Nghiên cứu của nhóm P.G. Rajeshet [18] về ảnh hưởng của PAW đối với sự nảy mầm của hạt và sự phát triển của cây con trên củ cải, củ cà ri và hạt đậu cho thấy các mầm được tưới bằng PAW có sự gia tăng đáng kể về chiều dài của chồi và cây con lần lượt là 22,41% và 17,44%, 16,44% và 24%, và 69,59% và 33,31% ở củ cải, củ cà ri và hạt đậu so với nước khử ion. Tuy nhiên, không có sự gia tăng đáng kể về chiều dài rễ trong trường hợp PAW trên củ cải được tưới nước khử ion. Nhóm cũng nhận định sự gia tăng tỷ lệ ROS trong PAW có thể là nguyên nhân làm tăng sự phát triển của cây con

### 1.1.3.3. PAW kiểm soát dịch bệnh và sâu bệnh

Việc sử dụng liên tục các loại thuốc diệt nấm gây ra mối đe dọa tiềm tàng đối với môi trường, từ kích ứng da đến ảnh hưởng rất độc đối với con người và sinh vật. Nghiên cứu về PAW để kiểm soát dịch bệnh và côn trùng gây hại đã được thực nghiệm. Các kết quả gần đây [19, 20, 21] cho thấy hoạt động của vi sinh vật bị ức chế đáng kể khi xử lý bằng PAW. Các triệu chứng do *Fusarium graminearum* gây ra đã giảm đáng kể trên các bông lúa mì. PAW có thể bảo vệ thực vật khỏi sâu bệnh và tiêu diệt vi khuẩn gây bệnh trên bề mặt. Các nghiên cứu mới cho rằng plasma có thể được sử dụng ở dạng trực tiếp hoặc gián tiếp trên cây trồng [21]. Các hoạt chất được tạo ra từ PAW như RNS, ROS, điện trường, tia điện từ, ion hoạt tính và tia cực tím có thể tham gia kiểm soát bệnh trong xử lý plasma kiểu phóng trực tiếp trong khi ROS và RNS lại là nhân tố chính trong kiểu phóng plasma gián tiếp. Các nghiên cứu cũng suy đoán rằng độ acid càng thấp, vi khuẩn càng dễ chết. Bên cạnh đó, PAW còn đóng vai trò như một chất đề kháng cho cây trồng, kích hoạt khả năng chống lại sâu bệnh.



Hình 1.4. Mô hình phòng trừ bệnh hại cây trồng bằng plasma

(Nguồn: B. Adhikari, [21])

## 1.2. Tình hình nghiên cứu về nước hoạt hóa plasma cho cây trồng

### 1.2.1. Tình hình nghiên cứu ngoài nước

Trong những năm gần đây, các nhà nghiên cứu từ nhiều lĩnh vực khác nhau đã hướng sự quan tâm đến việc nghiên cứu sử dụng công nghệ plasma lạnh trên các vật liệu khác nhau trong lĩnh vực sinh học và không phải sinh học. Sự hiện diện của RONS là yếu tố quan trọng cho thấy hiệu quả của việc sử dụng plasma lạnh. Nhiều bài báo khoa học liên quan đến plasma lạnh cho thấy công nghệ này chủ yếu được áp dụng cho hạt giống và thực phẩm. Ảnh hưởng của plasma lạnh đối với hình thái, sinh lý và tính chất phân tử khác nhau của hạt là một lĩnh vực nghiên cứu chưa được khám phá nhiều, nhưng được coi là có tiềm năng về sự an toàn và hiệu quả cao.

#### 1.2.1.1 PAW tăng cường nảy mầm ở hạt giống

Một số nguyên nhân quan trọng dẫn đến sự suy giảm năng suất cây trồng là do hạt bị nhiễm khuẩn làm giảm tỉ lệ nảy mầm, tỷ lệ nảy mầm thấp và thời gian nảy mầm kéo dài [22]. Sự phát triển của cây con trong quá trình nảy mầm bao gồm hai bước chính, đó là sự kéo dài tế bào sơ cấp của phần trục phôi và sự phân chia tế bào mô phôi hoặc bị trì hoãn trong mô phân sinh. Nghiên cứu của S.A. Sajib và cộng sự [17] đã cho thấy việc sử dụng PAW trên hạt giống để làm tăng tỷ lệ nảy mầm đã chỉ ra rằng PAW rất hiệu quả trong việc nảy mầm của hạt: tác động của PAW đối

với hạt *Vigna mungo* L. cho thấy tỷ lệ nảy mầm đã tăng lên đáng kể, từ 10 - 15%. Một nghiên cứu khác cho rằng cùng với hormone, các gốc ROS và NO tham gia vào một số con đường tín hiệu liên quan đến sự nảy mầm của hạt. Liên quan đến sự nảy mầm cho thấy các loài ROS bao gồm peroxide, gốc hydroxyl, hydrogen peroxide và oxy nguyên tử chịu trách nhiệm tác động đến sự nảy mầm của hạt [23]. Các loài ROS này được sản sinh và giải phóng bởi ti thể bên trong tế bào thực vật được coi là các vị trí hoạt động [14]. Việc bổ sung ROS được hình thành từ PAW có thể làm gia tăng hơn nữa sự nảy mầm của hạt. Sự hiện diện của ROS hoặc hạt được ngâm trong nước có chứa ROS tạo ra các hợp chất nâng cao tỷ lệ nảy mầm bằng cách phá vỡ sự ngủ đông của hạt. Sự hiện diện của H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> trong PAW có thể kích hoạt các gen CAT để tổng hợp các protein mới đã tăng cường sự nảy mầm của hạt giống *Paulownia tomentosa* [24]. Mặc dù có vẻ như khó có thể phá vỡ trạng thái ngủ đông của hạt giống và tăng cường sự nảy mầm của hạt, nhưng nghiên cứu của J. Wang và cộng sự [25] cho thấy NO là một tác nhân tích cực trong quá trình nảy mầm của hạt và ảnh hưởng đáng kể đến tỷ lệ nảy mầm. Các tác giả cũng cho biết rằng trong hạt nảy mầm được kích thích bởi nitrate, các hợp chất N như nitrate và NO, ảnh hưởng đến hoạt động của phytochrome. Cùng với các hormone thực vật, một số ROS và RNS đã tham gia vào việc phá vỡ trạng thái ngủ của hạt và kích thích hạt nảy mầm. Do đó, có thể kết luận rằng các hoạt chất được hình thành trong PAW có thể đóng vai trò điều khiển quá trình nảy mầm.

#### 1.2.1.2. PAW thúc đẩy sự phát triển của thực vật

Amoni và nitrate là nguồn N chủ yếu được cây hấp thụ từ đất để phát triển. Chúng được hình thành trong đất thông qua quá trình cố định đạm của vi khuẩn cố định đạm. Việc nitrate được hình thành từ PAW có thể đóng vai trò như một nguồn N thay thế cho thực vật sự phát triển. Khí N trong khí quyển được giữ và chuyển sang các gốc phản ứng khác thông qua quá trình hoạt hóa plasma trong nước. Một nghiên cứu của K. Takaki và cộng sự [4] đã dùng PAW trong 10 đến 20 phút để trồng cây *Brassica rapa var. P.* trong 28 ngày. Kết quả cho thấy, chiều dài cây được quan sát ở mẫu PAW trong 20 phút là 95 mm trong khi ở các nhóm đối chứng là 38 mm được ghi nhận vào cuối ngày 28 ngày. Một số nghiên cứu khác [26, 27] cũng cho kết quả tương tự về sự gia tăng chiều cao và kích thước lá đối với các loại thực vật trong quá trình canh tác có sử dụng PAW. Các tác giả đã kết luận rằng cùng với

hydrogen peroxide, nitrate và nitrite có trong PAW đóng một vai trò quan trọng trong sự phát triển của thực vật. Họ cũng đã tiến hành các thí nghiệm về sự phát triển của cây bằng cách so sánh việc sử dụng PAW với việc dùng phân bón các loại. Kết quả cho thấy, ở cây hồ tiêu và cây cà chua, chiều dài thân và rễ ở mẫu có PAW tốt hơn so với các nghiệm thức khác. Bên cạnh đó, nhiệt độ của hạt sau khi xử lý có ảnh hưởng đáng kể đến sự phát triển của cây. Các tác giả đã báo cáo rằng sự tương tác giữa ROS và hạt giống đã tăng cường sự phát triển của thực vật do các tín hiệu hóa học nội bào và ngoại bào. PAW cung cấp RNS cần thiết cho sự phát triển của thực vật, trong đó nitrate và nitrite hoạt động như một loại phân bón. Từ những điều trên, rõ ràng là mặc dù PAW có tác động tiêu cực đối với vi sinh vật, nhưng chưa hẳn đối với tế bào thực vật. Sự khác biệt quan trọng là do bản chất của thành tế bào và độ dày. Thành tế bào vi khuẩn là peptidoglycan trải qua quá trình peroxy hóa lipid trong khi thành tế bào thực vật là cellulose và hemicellulose.

### ***1.2.2. Tình hình nghiên cứu trong nước***

Tại nước ta, công nghệ plasma lạnh được quan tâm và nghiên cứu trong nhiều lĩnh vực khác nhau, chủ yếu trong y tế, thực phẩm, xử lý môi trường nước như: Nhóm nghiên cứu của nhóm Bùi Nguyên Quốc Trình đã nghiên cứu và chế tạo thiết bị bảo quản thực phẩm thông qua việc tạo ra nguồn phát plasma nguội, không chế nhiệt độ của đầu phát plasma. Thiết bị tạo ra có thể ức chế hoặc tiêu diệt vi khuẩn có hại. So với các phương pháp bảo quản hóa học, bảo quản bằng nhiệt độ cao bằng phương pháp plasma đã chứng tỏ được ưu thế, không để lại lượng tồn dư hoá chất không mong muốn trong thực phẩm sau xử lý [28]. Nhóm nghiên cứu của Trần Ngọc Đảm, Đại học Sư phạm Kỹ thuật Tp.HCM về ứng dụng plasma trong xử lý nước thải y tế, nước uống đóng chai [29]. Ngoài ra phải kể đến nhiều kết quả nghiên cứu của các nhóm nghiên cứu khác như nhóm nghiên cứu của Viện Vật lý Tp.HCM nghiên cứu ứng dụng plasma cho lĩnh vực y tế, nhóm nghiên cứu của Đỗ Hoàng Tùng tại Hà Nội về sử dụng plasma để điều trị vết thương hở trong y tế...

Nghiên cứu về nước hoạt hóa plasma, trong những năm gần đây có nhóm nghiên cứu của Nguyễn Quốc Sỹ (Viện Công nghệ VinIT) cũng đã thành công trong việc chế tạo hệ thống hoạt hóa plasma phục vụ cho nông nghiệp. Tuy vậy, các công bố của nhóm này đang tập trung cho việc ứng dụng của PAW, chưa công bố

những nghiên cứu về điều kiện hoạt hóa plasma, các tương tác trên từng đối tượng nghiên cứu ứng dụng...

Tại Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng, nhóm nghiên cứu về plasma của chúng tôi, trong 10 năm gần đây đã áp dụng thành công việc chế tạo và ứng dụng của khí và nước plasma cho nhiều lĩnh vực, trong đó có lĩnh vực nông nghiệp. Nhóm nghiên cứu cũng có nhiều công trình công bố, dự án, đào tạo thạc sĩ, cử nhân trong lĩnh vực plasma cho các ứng dụng như: Xử lý môi trường, chế tạo vật liệu mới, các đề án tư vấn cho các tỉnh. Trong lĩnh vực plasma nông nghiệp, cũng đã đào tạo được 01 Thạc sĩ nghiên cứu về plasma cho kích thích nảy mầm và tăng trưởng của đối tượng xà lách xoăn với kiểu phóng gián tiếp, lượng dung dịch nhỏ, chưa nghiên cứu sâu về các điều kiện đầu vào do đó chưa đánh giá được hết hoạt tính lý hóa của nước hoạt hóa plasma và các tác động của chúng lên đối tượng nghiên cứu.

### **1.3. Vai trò của chất oxi hóa và khoáng đa lượng cho cây trồng**

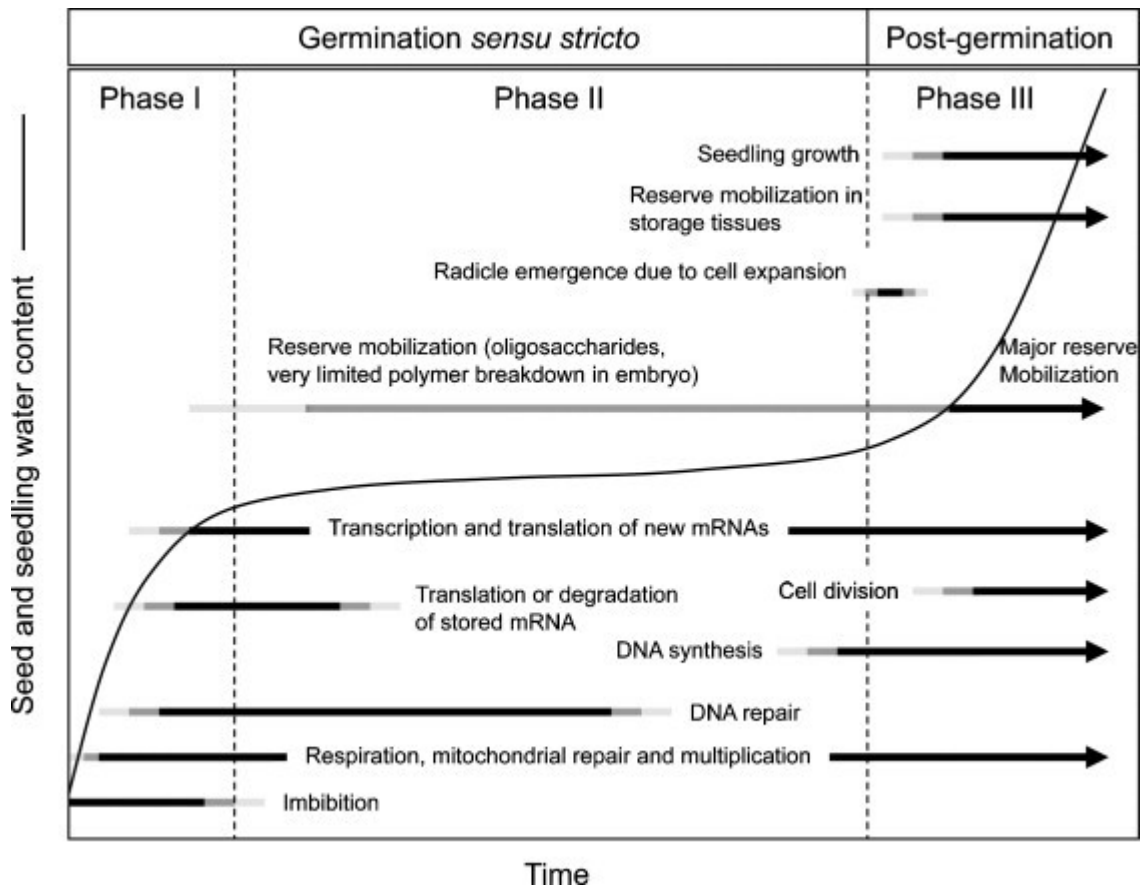
#### ***1.3.1. Quá trình nảy mầm***

##### *1.3.1.1. Nguyên lý của sự nảy mầm hạt*

Quá trình mầm bắt đầu bằng sự hút nước của hạt và kết thúc bằng sự xuất hiện của trục phôi. Hay “sự nảy mầm có thể nhìn thấy được” là khi phôi đâm ra khỏi hạt có độ dài khoảng 2 mm. Tuy nhiên, để ngắn gọn, từ nảy mầm thường được sử dụng để chỉ sự hoàn thành của quá trình nảy mầm (Ví dụ: Thuật ngữ “50% nảy mầm” có nghĩa là 50% quần thể hạt giống đã hoàn thành nảy mầm) và “thời gian nảy mầm” là % hạt giống đã hoàn thành nảy mầm tại một số thời điểm cụ thể [30-33].

Một hạt đã trưởng thành nhưng khô (có độ ẩm thấp 5– 15%) thì các hoạt động trao đổi chất trong hạt gần như dừng lại. Hiện tượng này được gọi là hạt ngủ. Hạt có thể ngủ trong khoảng thời gian dài, thậm chí là trong nhiều năm, và sau khi gặp các điều kiện thuận lợi thì hạt có thể tiếp tục trao đổi chất để nảy mầm [31, 32].

Khi hạt khô gặp nước thì một chuỗi các sự kiện được bắt đầu, kết quả cuối cùng dẫn đến sự xuất hiện của phôi, báo hiệu rằng quá trình nảy mầm đã hoàn tất [30, 32]. Những thay đổi tế bào xảy ra trong quá trình nảy mầm rất phức tạp như diễn biến ở hình 1.5. bên dưới.



Hình 1.5. Tiến trình thời gian của các sự kiện vật lý và trao đổi chất xảy ra trong quá trình nảy mầm và sự phát triển sớm của cây con

(Nguồn: H. Nonogaki, [30])

Thời gian để các sự kiện này diễn ra xảy ra khác nhau giữa các loài và bị ảnh hưởng bởi các điều kiện nảy mầm. Đường cong thể hiện quá trình hấp thụ nước theo thời gian.

### 1.3.1.2. Đo lường sự nảy mầm

Dấu hiệu để xác định quá trình nảy mầm hoàn thành và bắt đầu phát triển của cây con là phôi đâm thủng hạt lòi ra ngoài khoảng 2 mm. Trước khi nảy mầm, rất khó hoặc không thể dự đoán được một hạt sẽ mất thời gian bao lâu để hoàn thành việc nảy mầm. Do đó, thước đo cơ bản để đánh giá khả năng nảy mầm của một quần thể hạt giống là tỷ lệ hạt đã hoàn thành nảy mầm tại một thời điểm nhất định [33,34].



### 1.3.1.3. Sự hút nước của hạt

Hạt hút nước là bước đầu tiên cần thiết của quá trình nảy mầm. Hạt sấy khô thường có độ ẩm (hàm lượng nước tính theo phần trăm trọng lượng khô của hạt) trong khoảng 5– 15% tùy thuộc vào lượng dầu hạt và môi trường xung quanh, độ ẩm tương đối trong không khí. Hạt đã ngâm ủ hoàn toàn có thể có độ ẩm từ 75 đến 100% [33, 35].

Trong điều kiện tối ưu, sự hấp thụ nước của hạt gồm ba pha, diễn ra các quá trình vật lý và trao đổi chất khác nhau để thúc đẩy sự di chuyển của nước trong mỗi giai đoạn. Khi hạt khô tiếp xúc với nước, sẽ có một gradient hàm lượng rất lớn của nước giúp cho sự chuyển động của nó vào hạ [33, 35]

- Giai đoạn 1

Đây còn gọi là giai đoạn bất động, sự hấp thụ nước xảy ra bất kể hạt giống ở trạng thái ngủ hay không hoạt động, tồn tại (hạt sống) hay không sống được (hạt chết). Trên thực tế, hạt chết thường hấp thụ nhiều nước hơn hạt sống, vì các tế bào trong hạt sống khi đã bão hòa thì áp suất trong hạt chống lại sự hấp thụ nước. Nhưng khi hạt chết, màng tế bào không còn nguyên vẹn, áp suất vẫn bằng không và các chất hòa tan được giải phóng vào apoplast, cho phép quá trình hấp thụ nước tiếp tục xảy ra. Ở một số hạt, sự hấp thụ nước ban đầu xảy ra ở các vị trí cụ thể hoặc thông qua các đặc điểm cấu trúc vốn có trong các mô. Ngay sau khi hạt hấp thụ nước, thường có sự rò rỉ các chất hòa tan như đường, acid hữu cơ, ion, acid amin và protein vào môi trường xung quanh. Khi nước thấm vào hạt, xuất hiện một ranh giới giữa nước và tế bào. Đặc biệt ở những hạt lớn như đậu cô ve hoặc đậu Hà Lan, sức căng vật lý giữa các mô bên ngoài bắt đầu ngậm nước trong khi các mô bên trong vẫn còn khô. Khi sự xâm nhập quá nhanh, những căng thẳng bên trong có thể dẫn đến phá vỡ thành tế bào, phòng rộp bề mặt lá mầm và đùn các chất có trong tế bào. Ngoài sự ép đùn trực tiếp này, màng tế bào cũng có thể bị rò rỉ các ion và chất hòa tan trong quá trình hydrat hóa [36, 37].

Màng tế bào được cấu tạo bởi một lớp phospholipid kép, đầu ưa nước hướng ra ngoài, đầu kỵ nước hướng bên trong. Cấu trúc này phụ thuộc vào sự có mặt của nước để duy trì định hướng kỵ/ ưa nước. Khi hạt khô, màng chuyển từ trạng thái lỏng sang trạng thái gel do các phân tử đóng chặt hơn, điều này hạn chế chuyển

động của chúng. Sau đó, hạt tiếp xúc với nước trong suốt quá trình ngâm ủ, do vậy, nước sẽ xâm nhập vào trước khi các màng có thể trở lại trạng thái tinh thể lỏng, và hiện tượng rò rỉ hoặc tổn thương tế bào xảy ra. Sự chuyển đổi giữa trạng thái tinh thể lỏng và gel cũng phụ thuộc vào nhiệt độ. Nếu các màng khô được làm ẩm, chúng có thể "tan chảy" sang trạng thái tinh thể lỏng, và khi nước xâm nhập vào, sự rò rỉ hoặc hư hỏng ít xảy ra hơn. Điều này giải thích tại sao việc tạo ẩm ở nhiệt độ thấp có thể giảm bớt thiệt hại cho hạt giống [37].

- Giai đoạn II

Khi nước được hấp thụ vào hạt, các thành phần tế bào và thành tế bào bị ngâm nước, do đó, gradient đối với sự hấp thụ nước giảm sẽ làm chậm tốc độ hấp thụ nước. Sự hấp thụ nước trong phase II giảm do áp suất thẩm thấu giảm trong quá trình huy động các polyme dự trữ trong tế bào (tinh bột, đường hoặc protein) chuyển thành acid amin [38]. Điều này, cộng với sự trương nở của các thành phần tế bào, đặc biệt là protein khi bị hydrat hóa, gây ra sự gia tăng trọng lượng hạt có thể dẫn đến nứt hạt.

Trong giai đoạn II, hạt ngủ đông, sửa chữa ty thể, bắt đầu hô hấp và sửa chữa DNA (để phục hồi tính toàn vẹn của tế bào), nhưng ít bị phá vỡ dự trữ (trừ khi hạt vẫn ở trạng thái ngủ ngâm nước trong một thời gian dài) hoặc tổng hợp mRNA hoặc protein liên kết nảy mầm. Một số quá trình được hoàn thành trong giai đoạn II là sự cải tạo của bộ khung tế bào và sửa chữa những tổn thương đối với DNA tích lũy trong quá trình bảo quản khô. Trong hạt khô, các vi ống sẽ hình thành nên bộ khung tế bào. Trong vòng 8 giờ sau nước khi xâm nhập, các tiểu đơn vị protein kết hợp thành bộ khung tế bào liên kết với màng sinh chất tiếp giáp với thành tế bào [37, 38]. Tương tự, việc kết hợp các nucleotide vào DNA trước khi nhân đôi DNA hoặc phân chia tế bào cho thấy rằng sửa chữa DNA là một sự kiện xảy ra sớm trong giai đoạn II.

- Giai đoạn III

Chỉ những hạt hoàn thành quá trình nảy mầm mới bước tiếp vào giai đoạn III. Do vậy, sự hấp thụ nước trong giai đoạn III là bước tiếp theo của quá trình nảy mầm đã hoàn thành [30]. Khi tế bào thực vật mở rộng bằng cách hấp thụ nước và

kéo căng thành tế bào, sự gia tăng hấp thụ nước trong giai đoạn III cho thấy sự bắt đầu phát triển phôi thành cây con.

#### *1.3.1.4. Tổng hợp RNA và protein*

Yếu tố quan trọng nhất để hạt nảy mầm là lựa chọn điều kiện môi trường thích hợp để bắt đầu quá trình nảy mầm. Nảy mầm phụ thuộc vào phytohormone (GA, ABA, ethylene và auxin). Các yếu tố môi trường, bao gồm ánh sáng, nhiệt độ, hàm lượng nước trong đất và chất dinh dưỡng, ảnh hưởng đến hạt nảy mầm chủ yếu thông qua việc điều chỉnh quá trình trao đổi chất và con đường tín hiệu của GA và ABA [39].

Dự trữ huy động và hoạt hóa chuyển hóa: Trong quá trình phát triển của hạt, tất cả các chất dinh dưỡng (lipid, protein và tinh bột) đều ở dạng dự trữ. Sau khi nước xâm nhập, cấu trúc tế bào và hoạt động của các enzyme dần dần được khôi phục lại trong giai đoạn I và II. Sau khi hấp thụ đủ nước, các loại chuyển hóa khác nhau sẽ được kích hoạt.

Thay đổi biểu hiện gen [39,40]: Sau khi nước xâm nhập, biểu hiện gen thay đổi mạnh mẽ ở cả mức độ phiên mã, dịch mã và protein, cho thấy rằng những thay đổi trong biểu hiện gen có liên quan đến sự nảy mầm. Quá trình phiên mã các mRNA thiết yếu dự trữ trong hạt khô (sau 3– 12 giờ ngâm) không ảnh hưởng đến quá trình nảy mầm và đồng thời các chất ức chế phiên mã  $\alpha$ -amanitin không ngăn chặn sự nảy mầm, mà chỉ làm chậm quá trình nảy mầm của hạt. Quá trình phiên mã giúp gia tăng các chất chuyển hóa thứ cấp (các chất liên quan đến chuyển hóa carbohydrate, acid amin và thành tế bào) sẽ ảnh hưởng đến sự hình thành cây con hơn là sự nảy mầm. Dịch mã trong giai đoạn đầu của quá trình nảy mầm (sau 8 giờ ngâm) là điều kiện tiên quyết cho sự nảy mầm vì chất ức chế dịch mã làm suy giảm khả năng nảy mầm ở hạt.

Sự nô ra của radical: Sự hút nước tăng nhanh sau khi hoàn thành giai đoạn II do sự kéo dài của trục phôi. Nếu không giải phóng trạng thái ngủ đông, hạt giống không hoạt động, không thể đi vào giai đoạn III; Ở những hạt không ngủ đông, ABA có thể ức chế sự chuyển từ giai đoạn II sang giai đoạn III, nhưng không ảnh hưởng đến sự chuyển đổi từ giai đoạn I sang II. Trong hạt giống “nảy mầm hai

bước”, sự vỡ tinh hoàn xảy ra ở cuối giai đoạn II, và vỡ nội nhũ và nhô radical ra xảy ra ở giai đoạn III → hoàn thành nảy mầm.

Sự phân hủy pectin trong testa được điều chỉnh bởi ABA và tín hiệu 12-oxo-phytodienoic acid (OPDA). Sự biểu hiện của protein ức chế polygalacturonase và phân hủy pectin trong testa, làm suy giảm khả năng nảy mầm của hạt.

Sự nảy mầm của tất cả các loại hạt đều được điều chỉnh bởi mạng lưới tín hiệu và sự biểu hiện gen (phytohormone, phiên mã, dịch mã, quá trình xuất hiện radical). Tuy nhiên, có một số cơ chế riêng biệt đối với các loài thực vật khác nhau, đặc biệt là đối với việc huy động chất dinh dưỡng dự trữ và hoạt hóa quá trình trao đổi chất [39, 40].

Việc trao đổi chéo giữa phytohormone và các yếu tố môi trường về con đường truyền tín hiệu trong quá trình nảy mầm đến nay vẫn còn là điều khó hiểu [39].

### **1.3.2. Quá trình sinh trưởng**

#### *1.3.2.1. Nguyên lý của sự sinh trưởng*

Sự phát triển của thực vật có thể được định nghĩa là sự gia tăng thể tích và/hoặc trọng lượng thực vật có hoặc không có sự hình thành các cấu trúc mới như các cơ quan, mô, tế bào hoặc các bào quan của tế bào [41]. Sinh trưởng thường gắn liền với sự phát triển (sự biệt hóa tế bào và mô) và sinh sản (sinh sản cá thể mới). Một số tiêu chí khác nhau để xác định tỷ lệ sinh trưởng thực vật: Chiều cao hoặc chiều rộng, trọng lượng của cây (trọng lượng tươi, khô), số lượng tế bào, hàm lượng protein hoặc các chất thiết yếu khác.

Quá trình phân chia tế bào (còn gọi là tiến trình chu kỳ tế bào) rất giống nhau ở cả hai loài thực vật và động vật, tuy nhiên, giai đoạn tăng trọng lượng có thể xảy ra khá khác nhau giữa các loài thực vật và động vật. Điều này là do tế bào thực vật có không bào, cho phép kích thước của tế bào có thể tăng mạnh. Ngoài ra, tế bào thực vật có thành cellulose giúp ngăn cản tế bào sinh trưởng và chính đặc điểm này có tác động lớn đến sự sinh trưởng và các đặc điểm về kích thước của tế bào [41, 42, 43]. Giai đoạn cuối cùng, biệt hóa tế bào, đóng một vai trò rất quan trọng trong quá trình phát triển và hình thành tế bào thực vật vì nó dẫn đến sự hình thành các

loại tế bào, mô và cơ quan mới. Trong giai đoạn này, hai tế bào con được hình thành sau quá trình phân chia của tế bào mẹ và chúng bắt đầu trải qua các giai đoạn phân tử khác nhau. Kết quả là các tế bào này tích tụ các phân tử và các chất khác nhau dẫn đến sự hình thành các mô hoặc cấu trúc khác nhau [41, 42].

Ở thực vật đa bào có những vùng riêng biệt, nơi xảy ra quá trình phân chia tế bào, gọi là mô phân sinh. Các tế bào này là các tế bào toàn năng, nghĩa là chúng có khả năng phân chia và tạo ra tất cả các loại tế bào khác ở sinh vật đang phát triển. Mô phân sinh đỉnh chồi (SAM - Shoot Apical Meristem) và mô phân sinh đỉnh rễ (RAM - Root Apical Meristem) tạo ra tất cả các cơ quan sơ cấp và là tiền đề cho sự phát triển của các cơ quan còn lại của cây. Nếu cây còn duy trì một nhóm các tế bào mô phân sinh này ở trạng thái sinh dưỡng, thì sự sinh trưởng và phát triển của chồi là không xác định và cây có khả năng hình thành các con đường khác nhau. Mô phân sinh chồi của chồi chính và mô phân sinh rễ của rễ chính được hình thành ở giai đoạn phôi, trong khi các mô phân sinh khác ở thực vật được hình thành sau phôi [41, 42].

Như vậy, nhờ quang hợp và hô hấp tạo ra năng lượng cũng như các hợp chất hữu cơ kết hợp với quá trình phân chia, gia tăng thể tích và biệt hóa ở cấp độ tế bào đã thúc đẩy sự tích lũy và sinh trưởng ở cây.

#### *1.3.2.2. Khả năng thấm ướt, nảy mầm, sự phát triển cây con và hoạt động của enzyme*

- Khả năng thấm ướt, nảy mầm

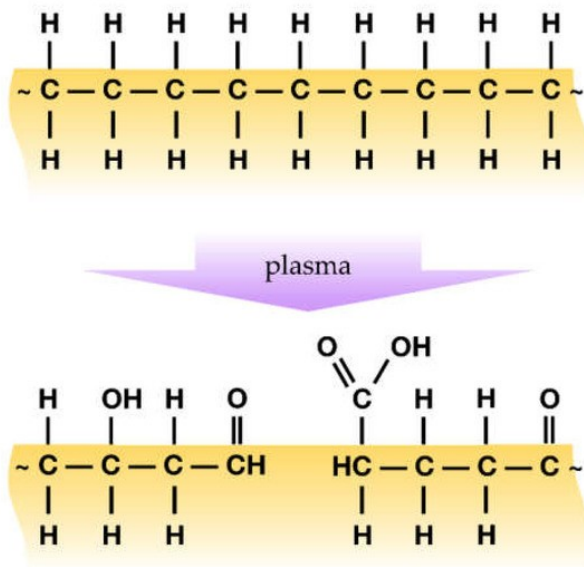
Để đánh giá khả năng thấm ướt của bề mặt hạt, cần đánh giá thành phần hóa học của lớp vỏ hạt. Lớp ngoài của cấu trúc hạt là vỏ hạt (testa), là lớp tế bào chết có khả năng bảo vệ [44]. Ngoài ra, lớp vỏ hạt của nhiều loài thực vật được bao phủ bởi một lớp cutin, đây là lớp sáp kỵ nước bảo vệ hạt và kiểm soát tính thấm của vỏ hạt [45]. Lớp biểu bì bao gồm các loại sáp cutin, thường là hỗn hợp của các hydrocarbon mạch dài, bão hòa, không phân nhánh, với sự hỗ trợ cao phân tử của lớp cutin sinh học, một loại polyester béo ưu việt với các chuỗi hydrocarbon dài. Thành phần hóa học của vỏ hạt có bản chất kỵ nước [45]. Một trong những vai trò của lớp vỏ hạt, đặc biệt là lớp biểu bì, là bảo vệ hạt trưởng thành chống lại sự dao động của độ ẩm, cũng như quá trình hydrat hóa và rò rỉ chất điện phân trong quá

trình nảy mầm. Tuy nhiên, ái lực của nước rất quan trọng trong việc bắt đầu quá trình nảy mầm. Tăng khả năng thấm ướt bề mặt giúp tăng khả năng tiếp xúc giữa nước và hạt, cho phép hình thành màng nước trên bề mặt hạt và đẩy nhanh quá trình ngâm hạt [46]. Hơn nữa, sự tiếp xúc trực tiếp hiệu quả của bề mặt hạt với nước cuối cùng có thể đẩy nhanh quá trình nảy mầm. Do đó, việc thay đổi khả năng thấm ướt của hạt giống có tầm quan trọng trong nông nghiệp.

Plasma được nghiên cứu có tác động đến khả năng thấm ướt của các vật liệu tiếp xúc với nó, bao gồm cả các polyme hữu cơ. Khả năng thấm ướt bề mặt hạt tăng lên sau khi xử lý plasma do sự thay đổi của hai tính chất: Tính chất hóa học bề mặt và hình thái bề mặt. Sự cải thiện tính ưa nước quan sát được là kết quả tổng hợp của hai cơ chế [47, 48]. Hiệu quả của việc xử lý plasma là rất cụ thể trên bề mặt, độ sâu lên đến vài chục nanometers.

- Tính chất hóa học bề mặt

Khi plasma sử dụng khí dẫn có chứa O- hoặc N- thì quá trình xử lý làm tăng mật độ của các nhóm phân cực trên bề mặt hạt [49], do đó làm tăng tính ưa nước (Hình 1.6). Có thể đo khả năng thấm ướt bề mặt hạt sau khi xử lý plasma, sau đó phân tích hóa học bề mặt bằng các kỹ thuật khác nhau, ví dụ đo quang phổ quang điện tử tia X (XPS - X-ray Photoelectron Spectroscopy) của bề mặt hạt lúa mì sau khi xử lý plasma DBD helium/ không khí đã phát hiện thấy sự giảm carbon và tăng hàm lượng oxy [46]. Các kỹ thuật có độ sâu phân tích cao hơn, chẳng hạn như quang phổ tia X phân tán năng lượng (EDX) hoặc quang phổ hồng ngoại FTIR, cũng chỉ ra quá trình oxy hóa và ăn mòn của các lớp vỏ hạt bên ngoài, nhưng ít hoặc không có làm thay đổi thành phần hóa học của hạt trong quá trình tiếp xúc với plasma [46].



Hình 1.6. Mô hình thể hiện sự gia tăng mật độ các nhóm phân cực trên bề mặt hạt giống nhờ quá trình xử lý plasma.

(Nguồn: M. Holc, [50])

- Hình thái bề mặt

Độ nhám bề mặt tăng, dẫn đến tỷ lệ bề mặt trên thể tích tăng lên, cũng làm tăng khả năng thấm ướt. Xử lý plasma bằng cách sử dụng nhiều loại nguồn phát và khí dẫn đã được chứng minh là có thể ăn mòn bề mặt của các loại hạt khác nhau [48]. Cơ chế của quá trình ăn mòn là vật lý, thông qua các ion năng lượng, cũng như hóa học, thông qua quá trình oxy hóa bề mặt liên tiếp và loại bỏ cacbon trong các hợp chất dễ bay hơi [51]. Quá trình ăn mòn bề mặt diễn ra nhanh hơn khi thời gian và công suất xử lý tăng lên [46]. Quá trình ăn mòn plasma của các vật liệu hữu cơ thường diễn ra ở cấp độ nano [48], do đó cần sử dụng độ phóng đại đủ cao để phát hiện ra nó.

- Ảnh hưởng của xử lý plasma lên bề mặt hạt

Một nghiên cứu [52] đã phân tích khả năng thấm ướt và khả năng xâm nhập của nước đối với hạt *Mimosa caesalpiniaefolia*. Khả năng thấm ướt và khả năng chống thấm của hạt được phát hiện có liên quan trực tiếp đến thời gian hoạt hóa plasma, có thể là PAW làm biến đổi tính chất hóa học ở các lớp lipid của hạt. Sau khi thay đổi hoàn toàn, sự bão hòa của khả năng thấm ướt cũng được quan sát thấy sau 9 phút. Sự thay đổi hóa học chủ yếu là do quá trình oxy hóa gây ra, như nghiên

cứu về đậu xanh [53]: Đối với khí đầu vào là không khí sẽ cho sự thay đổi tốt hơn, trong khi đối với He hoặc N<sub>2</sub>, sự thay đổi là không đáng kể. Phân tích bề mặt bằng SEM và FTIR cũng cho thấy những thay đổi nhỏ ở lớp bề mặt gây ra do quá trình oxy hóa lipid và polysaccharid của PAW. Báo cáo từ nghiên cứu của L.M. Fan và cộng sự [54] trên hạt đậu xử lý bằng PAW cũng cho thấy tỷ lệ hấp thụ nước tăng lên 65% - 75%. Người ta cũng dùng phương pháp SEM để khẳng định rằng lớp vỏ hạt của đậu xanh bị nứt nẻ và nó giúp cải thiện khả năng hấp thụ nước cùng chất dinh dưỡng, đây là điều kiện có thể nâng cao tỷ lệ nảy mầm của đậu xanh và thúc đẩy sự phát triển của lá và rễ [53].

Sự phát triển ban đầu của cây con có liên quan chặt chẽ đến quá trình nảy mầm. Do đó, việc tiếp xúc với plasma lạnh hoặc sử dụng PAW với thời gian thích hợp sẽ cải thiện quá trình sinh trưởng ban đầu của cây con.

Có nghiên cứu đã ghi nhận sự gia tăng chiều dài của chồi và rễ sau 30 giây và 60 giây xử lý plasma với mức tối ưu đạt được là 30 giây đối với hạt đậu Hà Lan và bí ngô [55]. Sự cải thiện của chiều dài rễ và chồi, trọng lượng khô và sức sống, cùng với những thay đổi trong việc sản xuất các hormone nội sinh (auxin và cytokinin và các chất dị hóa) cũng được ghi nhận. [56].

Các tác động tích cực của PAW đã được ghi nhận trong các nghiên cứu của F. Judée và cộng sự [57], việc bổ sung hàng ngày cho đậu lăng bằng PAW đã làm tăng chiều dài cây con lần lượt là 34% và 128% sau 3 ngày và 6 ngày. Kết quả tương tự đối với đậu đen đã được ghi nhận trong nghiên cứu của Sajib và cộng sự [21]. Đối với đậu xanh, các nghiên cứu [53,54] đã ghi nhận những tác động tích cực với hàm lượng PAW tối ưu liên quan đến thời gian kích hoạt nước và áp suất không khí. Thời gian kích hoạt tối ưu là 15 giây, vì thời gian kích hoạt lâu hơn dẫn đến giảm các tác động tích cực. Các tác động tích cực tốt nhất được quan sát đối với PAW được điều chế trong không khí so với điều chế bằng khí O<sub>2</sub>, Heli và N<sub>2</sub>.

- Hoạt động enzyme trong quá trình trao đổi chất của cây con

NTP và PAW cũng ảnh hưởng đến các đặc tính các chất bên trong hạt hoặc thực vật là do sự thay đổi trong hoạt động trao đổi chất. Quá trình oxy hóa do NTP gây ra và các phản ứng trao đổi chất được trình bày trong các nghiên cứu sau đây: Ebrahimibasabi và cộng sự [58] quan sát thấy sự gia tăng hoạt động của catalase cỏ



ca ri lên 24%, glutathione peroxidase lên 53%, ascorbate peroxidase là 86%. Stolárik và cộng sự [59] cho rằng việc kích thích nảy mầm nhanh hơn và các hoạt động của hormone có liên quan đến tín hiệu và sự phát triển của cây trong giai đoạn sinh trưởng ban đầu của cây hạt đậu.

### **1.3.2. Vai trò của $H_2O_2$**

$H_2O_2$  là một chất oxy hóa mạnh và được biết đến đầu tiên với vai trò là kháng khuẩn. Đã có nhiều nghiên cứu trước đây chỉ ra rằng  $H_2O_2$  có thể gây ra stress oxy hóa cho tế bào thực vật dẫn đến ức chế sự phát triển của thực vật. Tuy nhiên, trong thời gian gần đây, tác dụng kích thích nảy mầm của  $H_2O_2$  đã được các nhóm nghiên cứu khác nhau trên thế giới chứng minh [60- 62]. Nghiên cứu của M. Černý và cộng sự [61] cho rằng ở hàm lượng thấp,  $H_2O_2$  hoạt động như một phân tử truyền tín hiệu và ở nhiều khía cạnh, giống với kích thích tố thực vật, mặc dù mạng lưới truyền tín hiệu của nó ở thực vật kém đặc trưng hơn nhiều so với mạng lưới truyền tín hiệu của nó ở nấm men hoặc động vật có vú. Tuy nhiên sự tích lũy cho thấy vai trò của tín hiệu qua trung gian  $H_2O_2$  trong tế bào thực vật thậm chí còn rất quan trọng. Các nghiên cứu trên cho thấy vai trò của  $H_2O_2$  như một phân tử tín hiệu kích thích sự nảy mầm của hạt thông qua quá trình đồng hóa và/ hoặc dị hóa với phytohormone như GA, ABA và ethylene trong thực vật. E.G. Barba [63] đã chứng minh rằng  $H_2O_2$  ngoại sinh làm tăng sự nảy mầm của hạt đậu, cũng như sự phát triển của cây con do  $H_2O_2$  gây ra có liên quan đến tín hiệu, sinh trưởng thực vật, phân chia tế bào và kiểm soát chu kỳ tế bào. Kết quả nghiên cứu của nhóm K. Ogawa [64] cho thấy (các) chất ức chế nảy mầm  $H_2O_2$  oxy hóa có trong vỏ hạt giúp thúc hạt nảy mầm nhanh hơn,  $H_2O_2$  ngoại sinh cung cấp hệ thống rễ khỏe hơn, tăng sự phát triển của cây con và tăng khả năng chịu mặn ở lúa mì.  $H_2O_2$  là một phân tử tồn tại tương đối dài, dễ dàng đi qua màng sinh học và do đó có thể tạo nên sự oxy hóa ở xa nơi hình thành của nó [62, 65].

### **1.3.3. Vai trò của nguyên tố đa lượng N, P, K**

Các nguyên tố đóng một vai trò quan trọng trong sinh lý tổng thể của thực vật. Thực vật thu nhận các chất từ đất phần lớn thông qua hệ thống rễ của chúng, sau đó được vận chuyển và chuyển vị trí đến nơi mong muốn của chúng bên trong cơ thể thực vật [66]. Khi ở bên trong cơ thể thực vật, các nguyên tố đóng vai trò

riêng lẻ của chúng, tất cả các nguyên tố này đều liên quan đến sự sinh trưởng và năng suất tổng thể của cây trồng. Thực vật cần 17 nguyên tố để phát triển và tùy thuộc vào lượng yêu cầu mà chúng có thể được phân loại thành vi chất dinh dưỡng và vĩ mô. Các chất dinh dưỡng đa lượng của cây là những chất có trên 1000 mg/ kg trọng lượng khô của cây. Các nguyên tố này bao gồm carbon, hydrogen, oxygen, calcium, potassium, magnesium, nitrogen, sulfure và phosphorus trong đó carbon, hydrogen và oxygen tạo thành khoảng 95% chất khô của thực vật. Các nguyên tố khác có hàm lượng nhỏ hơn 100 mg/ kg trọng lượng khô được gọi là vi chất dinh dưỡng. Các nguyên tố đóng một số vai trò quan trọng đối với thực vật và có thể được phân loại rộng rãi thành (1) thành phần cấu tạo nên thành tế bào thực vật, (2) hỗ trợ thẩm thấu và duy trì áp suất của tế bào, (3) quá trình truyền năng lượng, (4) tham gia vào các phản ứng xúc tác bằng enzyme, (5) tham gia vào quá trình sinh sản [67].

- Khoáng chất N

N là nguyên tố quan trọng trong dinh dưỡng thực vật, ảnh hưởng đến sự phát triển và năng suất của cây trồng và năng suất cây trồng. Việc thu nhận ánh sáng của tán cây và hàm lượng N của lá phụ thuộc nhiều vào sự sẵn có của N. N được cây trồng hấp thụ dưới sự kết hợp của hai dạng, đó là dạng nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) và dạng amoniac ( $\text{NH}_4^+$ ) [68]. Phần lớn các loại cây trồng sử dụng N ở dạng nitrate. Tuy nhiên, cây cỏ và một số thực vật bậc cao khác thích N ở dạng amoniac [69]. Hầu hết các loại phân bón đều chứa N ở dạng vô định lượng hoặc ở dạng nitrate. Phân urea có chứa amide, chất này nhanh chóng được các vi sinh vật trong đất chuyển đổi thành dạng amoniac và cuối cùng thành nitrate [70]. Dựa trên dạng N, phân đạm có thể được phân loại thành: (a) phân nitrate, (b) phân amoniac, (c) phân amoni nitrate và (d) phân amide.

Việc tăng cường sử dụng phân bón, đặc biệt là N, đã cải thiện tốc độ sinh trưởng và năng suất cây trồng (hiệu quả sử dụng ánh sáng, kg chất khô trên một đơn vị thoát hơi nước). Việc sử dụng N tối ưu cho sự sinh trưởng và tối đa hóa năng suất được xác định bởi các đặc điểm thực vật, các quá trình sinh lý, điều kiện môi trường và quản lý chất dinh dưỡng. N là khoáng chất thiết yếu nhất mà cây cần và đóng vai trò là yếu tố quan trọng quyết định sự phát triển của cây. Nguyên tố này là thành

phần chính của các phân tử sinh học của tế bào như acid nucleic, protein, chất diệp lục và chất điều hòa sinh trưởng thực vật. Nitrate được cây hấp thụ từ đất chủ yếu ở dạng nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) hoặc amoni ( $\text{NH}_4^+$ ) bởi rễ hệ thống của chúng. Tuy nhiên, nguồn cung cấp N trong đất thường trở nên hạn chế khiến nông dân phải sử dụng phân đạm để điều chỉnh sự thiếu hụt [71]. Tất cả các loại cây trồng đều cần một lượng N cân bằng để sinh trưởng và phát triển tối ưu. Yêu cầu này thường khác nhau ở các loại cây và thường bổ sung bằng cách sử dụng phân bón N nếu cần thiết.

N thông qua phân bón chứa N trở thành đầu vào lớn nhất của các khoáng chất bổ sung vào đất trồng trọt. Thiếu N dẫn đến giảm quang hợp, giảm hàm lượng chất diệp lục và các sắc tố phụ [72], sinh trưởng còi cọc và nhiễm clo [73]. Ngoài ra, thiếu N dẫn đến giảm kích thước tế bào, trọng lượng và hàm lượng protein đồng thời làm giảm số lượng và kích thước của lục lạp [74].

- Khoáng chất P

Bên cạnh N, P cũng là nguyên tố cần thiết cho quá trình quang hợp và phát triển của cây. P cần thiết cho sự phát triển và sinh trưởng của cây trồng và chiếm tới 0,2% trọng lượng khô của cây trồng [75]. Nó là một trong những chất dinh dưỡng đa lượng thiết yếu cần thiết cho quá trình tổng hợp nucleic acid, xây dựng và ổn định màng tế bào, chuyển hóa năng lượng và nhiều quá trình sinh lý và sinh học quan trọng khác trong quá trình sinh trưởng và phát triển của cây [76]. Một cây trồng đang phát triển có thể trải qua các giai đoạn khác nhau trong quá trình dinh dưỡng khoáng, dựa trên sự cân bằng giữa nguồn cung cấp chất dinh dưỡng bên trong và bên ngoài cũng như nhu cầu về chất dinh dưỡng của cây trồng [77]. Ban đầu, thực vật sẽ sống nhờ nguồn dự trữ hạt giống của chúng, với nguồn cung cấp bên ngoài ít ảnh hưởng đến sự phát triển của thực vật. Giai đoạn thứ hai xảy ra khi tốc độ sinh trưởng được xác định bởi nguồn cung cấp chất dinh dưỡng thông qua sự cân bằng động giữa các yếu tố bên trong và nguồn cung cấp bên ngoài. Khoảng thời gian cần thiết để thiếu P biểu hiện tác động lên các quá trình của cây phụ thuộc vào mức độ dự trữ photphat. Trong mô của hầu hết thực vật bậc cao, hầu hết photphat tồn tại dưới dạng photphat vô cơ. Hơn 75% P di chuyển trong mạch gỗ là chất vô cơ, trong khi P được chuyển vị trí lại trong phloem hiện diện dưới dạng enzyme, protein và ribonucleic acid, với hàm lượng ATP rất cao. Hàm lượng P dự trữ cao từ

hạt giống hoặc từ sự hấp thụ bên ngoài vào đầu mùa hình thành nguồn dự trữ P, có thể làm đệm chống lại những biến động ngắn hạn trong nguồn cung cấp P. Căng thẳng P vừa phải có thể không tạo ra các triệu chứng thiếu hụt rõ ràng. Tuy nhiên, khi thiếu P trầm trọng hơn, cây có màu xanh đậm đến tím [77].

- Khoáng chất K

Sự cần thiết của K đối với sự phát triển của thực vật được Justus Leibig chỉ ra lần đầu tiên vào năm 1840. Mặc dù trữ lượng K trong đất lớn nhưng hầu hết chúng ở dạng không sử dụng được dẫn đến nhu cầu sử dụng phân K [78]. Điều này dẫn đến nhu cầu cần bổ sung K cho cây trồng. Các triệu chứng trực quan của tình trạng thiếu K là cây phát triển còi cọc kèm theo hiện tượng mép lá bị vàng [79]. Thêm vào đó, các lá già của cây bị thiếu K sẽ bị hoại tử do ion K thoát ra các lá non. Cây thiếu K làm giảm hàm lượng K trong chồi và rễ. Ngoài ra, còn có sự gia tăng hoạt động của các enzyme chống oxy hóa, cụ thể là superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, glutathione reductase và catalase [80]. Một nghiên cứu khác cho thấy rằng thiếu K dẫn đến giảm sự phát triển của rễ. Cả trọng lượng rễ, diện tích bề mặt rễ và số lượng các nhánh bên đều giảm ở những cây sinh trưởng trong điều kiện thiếu K. K thường được coi là một nguyên tố chất lượng cho sản xuất cây trồng và đã được chứng minh là có vai trò quan trọng trong nhiều thông số chất lượng sản phẩm. Các thông số chất lượng sản phẩm như kích thước quả, bề ngoài, màu sắc, chất rắn hòa tan, độ acid, hàm lượng vitamin, hương vị và thời hạn sử dụng bị ảnh hưởng tích cực bằng cách cung cấp đủ K. Những đặc tính này bị ảnh hưởng bởi quá trình quang hợp, chuyển vị của quá trình quang hợp, tổng hợp protein, điều hòa khí khổng, kích hoạt các enzyme và nhiều quá trình khác. Khả năng chống chịu của K với các điều kiện khắc nghiệt của môi trường như khô hạn, thừa nước, gió, nhiệt độ cao và thấp và vai trò của K trong điều tiết nước của cây là những yếu tố làm tăng năng suất cây và chất lượng quả. Cây rất nhạy cảm với bệnh tật và sâu bệnh. Việc cung cấp K tối ưu đến từ những rắc rối này. Ngoài ra, các tác dụng khác của K có thể kể đến như: Hàm lượng nước quả cao, hàm lượng vitamin C cao, thúc đẩy quá trình chín của quả, chống lại sự phân hủy vật lý trong quá trình vận chuyển và bảo quản [81]. K có hai chức năng chính về nước và chất dinh dưỡng trong cây trồng: Nó đóng một vai trò quan trọng trong việc kích hoạt các enzyme cơ bản để sản xuất protein và đường. Đối với chức năng sinh hóa này, K được yêu cầu với số lượng

nhỏ. K bảo vệ hàm lượng nước trong cây. Do đó, như một chức năng sinh lý, nó giúp duy trì sự căng thẳng của các tế bào. Tế bào Turgid bảo vệ sức sống của lá. Do đó, quá trình quang hợp tiến hành hiệu quả. Lượng K tiêu thụ trong các chức năng sinh lý sinh cao hơn lượng tiêu thụ trong các chức năng sinh hóa [79]. K “kích hoạt” ít nhất 60 enzyme khác nhau liên quan đến sự phát triển của thực vật. K làm thay đổi hình dạng vật lý của phân tử enzyme, làm lộ ra các vị trí hoạt động hóa học thích hợp cho phản ứng. K cũng trung hòa các anion hữu cơ khác nhau và các hợp chất khác trong cây, giúp ổn định độ pH từ 7 đến 8, tối ưu cho hầu hết các phản ứng enzyme. Lượng K có trong tế bào quyết định bao nhiêu enzyme có thể được kích hoạt và tốc độ các phản ứng hóa học có thể tiến hành. Do đó, tốc độ của một phản ứng nhất định được kiểm soát bởi tốc độ K xâm nhập vào tế bào [82]. Cây thiếu K do đó kém khả năng hút nước và dễ bị căng thẳng khi thiếu nước. Khi cây thiếu K, tốc độ quang hợp và tốc độ sản xuất ATP bị giảm, và tất cả các quá trình phụ thuộc vào ATP bị chậm lại [82]. Thời gian cây hút K thay đổi theo từng loại cây khác nhau. Tuy nhiên, thực vật thường hấp thụ phần lớn K ở giai đoạn sinh trưởng sớm hơn so với N và P. Các thí nghiệm về sự hấp thụ K của ngô cho thấy 70-80% được hấp thụ trong thời gian ủ, và 100% được hấp thụ từ ba đến bốn tuần sau khi ủ.

#### **1.4. Tổng quan về *Lactuca sativa* L.**

##### **1.4.1. Giới thiệu chung**

Xà lách xoăn hay rau diếp (*Lactuca sativa* L.) thuộc họ Cúc (Asteraceae) là họ thực vật có hoa lớn nhất (ngành hạt kín – Angiosperms), là một trong những loại rau vườn phổ biến nhất trên thế giới, đặc biệt được biết đến với tên gọi “salad trộn”. Xà lách *Lactuca sativa* L. là thành viên đại diện quan trọng nhất của chi *Lactuca*, được tiêu thụ với số lượng ngày càng tăng, vì nó được coi là một loại thực phẩm lành mạnh và mang nhiều giá trị dược tính [83, 84]. Ngoài ra, xà lách xoăn ngày càng được người tiêu dùng chấp nhận vì nó tốt cho sức khỏe và dễ chế biến. Bộ phận được sử dụng nhiều nhất là lá, sau đó là thân (lấy nước ép) và hạt (lấy hạt hỗn hợp). Xà lách xoăn được trồng để lấy phần đầu, thường được ăn tươi, trong các món salad khác nhau.



*Hình 1.7. Hạt, hoa, cây xà lách xoăn*

*(Ảnh chụp thực tế tại phòng thí nghiệm)*

Trong những năm gần đây, giai đoạn phát triển dạng mầm của xà lách xoăn, giai đoạn thu hoạch trước khi trưởng thành, chỉ từ 7 đến 21 ngày sau khi nảy mầm, đã trở thành một xu hướng ẩm thực bởi điều kiện trồng và thu hoạch xà lách xoăn tương đối dễ dàng và có thể trong giai đoạn này, lượng chất dinh dưỡng (acid ascorbic,  $\beta$ -carotene,  $\alpha$ -tocopherol và phylloquinone) vitamin và khoáng chất (Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Se và Mo) của chúng cao từ 4 đến 40 lần so với giai đoạn trưởng thành [85, 86]. Thêm vào đó, với việc sản xuất, đầu tư trong giai đoạn ngắn và khả năng chống chịu với điều kiện thời tiết khắc nghiệt, xà lách xoăn đang là đối tượng được chú ý nghiên cứu trong thời gian gần đây [87].

#### **1.4.2. Đặc tính của xà lách xoăn**

Xà lách xoăn có một rễ cái có thể dài tới 60-70 cm. Nhiều rễ khác mọc theo chiều ngang, có thể dài tới 10- 15 cm. Các lá phát triển khác nhau, tùy theo loại; đầu tiên, một hoa thị lá được phát triển, và sau này, một số loại cũng phát triển một đầu lông lẻo, ít nhò hơn. Lá thường có màu rất sồng động: Xanh lá cây, đỏ hoặc vàng. Kích cỡ và hình thức của lá phát triển tùy thuộc điều kiện canh tác. Lá có cuống ngắn, gấp nếp và các cạnh có thể nhẵn hoặc có hình răng cưa. Giai đoạn đầu kéo dài 10-15 ngày, sau đó, cây phát triển thân ra hoa. Một thân cây ra hoa rất cao, phân nhánh và có một cái mũ với hoa màu vàng trên đỉnh của hoa. Thân xà lách xuất hiện

sau 45- 65 ngày kể từ sau khi gieo hạt và thân có thể đạt chiều cao 1- 1,2 m. Những bông hoa được nhóm lại trong hình trụ hình trứng hoặc hình ống, nhỏ và màu vàng. Quả nhỏ, loại quả bế và có màu trắng bạc, đen hoặc màu nâu [88].

Xà lách xoăn có thời gian sinh trưởng ngắn, có thể thu hoạch sau khoảng 7- 15 ngày và sau khoảng 120 ngày, hạt có thể được thu hoạch. Xà lách xoăn có thể được bảo quản trong phòng lạnh, ở nhiệt độ 0- 1 °C và độ ẩm 95%, cho đến 10- 12 ngày. Xà lách có thể được tìm thấy với nhiều màu sắc, kích cỡ và hình thức, tùy thuộc điều kiện canh tác được lựa chọn. Mặc dù đã có những hệ thống phân loại khác nhau được đề xuất bởi các nhóm nghiên cứu khác nhau trong suốt nhiều năm [89- 91], tuy vậy đến nay vẫn chưa có hệ thống phân loại tiêu chuẩn hóa, do sự đa dạng về hình thái và di truyền cao trong các loại xà lách [86]. Có thể tạm chia sáu loại xà lách chính dựa trên hình dạng lá, kích thước, kết cấu, hình thành đầu và loại. Đó là (1) rau diếp giòn (*var. Capitata* L. *nidus jnticri* Helm), (2) rau diếp bơ (*var. capitata* L. *nidus tenerrima* Helm), (3) rau diếp romaine hoặc cos (*var. longifolia* Lam., *var. romana* Hort. in Bailey), (4) xà lách lá hoặc cắt cành (*var. acephala* Alef., *syn. var. secalina* Alef., *syn. var. crispa* L.), (5) xà lách thân hoặc cuống (Asparagus) (*var. angustana* Irish ex Bremer, *syn. var. asparagina* Bailey, *syn. L. angustana* Hort. In Vilm.), và (6) xà lách Latinh (không có tên khoa học).

Xà lách xoăn là loại thực phẩm lành mạnh, có hàm lượng dinh dưỡng cao vì chứa hàm lượng chất chống oxy hóa cao (Vitamin A, C và E, carotenoid và polyphenol), sắt và canxi [92], folic acid và chất xơ, anthocyanins và chất diệp lục, với anthocyanins có nhiều hơn trong các giống màu đỏ. Xà lách thường ít calo và chứa nhiều chất xơ, và lá tươi là nguồn cung cấp nhiều vitamin A và  $\beta$ - carotene [88].

Xà lách xoăn có tính thích nghi cao do vậy biểu hiện kiểu hình, hình thái, sinh lý của chúng cũng bị ảnh hưởng đáng kể bởi các điều kiện phát triển. Chúng có thể nảy mầm thành công ngay cả trong điều kiện xử lý trước gieo trồng bằng NaCl, CaCl<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> và natri nitroprusside [93].

Các điều kiện ánh sáng và nhiệt độ được coi là những điều kiện tác động quan trọng đối với sự phát triển của xà lách xoăn. Bức xạ mặt trời, đặc biệt là ánh sáng đỏ sóng dài, là yếu tố hạn chế cho sự nảy mầm của hạt xà lách xoăn [94].

Nhiệt độ cao cũng ảnh hưởng đến phytochromes, là chất truyền quang hoạt động trên màu xanh lam và ánh sáng đỏ, gây nở lá, giảm khả năng nảy mầm và các vấn đề với chu kỳ sinh trưởng của cây. Xà lách xoăn không cần nhiệt độ cao, chịu rét tốt. Ở 5- 10°C, hạt nảy mầm và cây bắt đầu đâm chồi sau khi gieo 6-10 ngày. Xà lách xoăn chịu được nhiệt độ từ -5 đến -6 °C, nếu nó đang ở giai đoạn hình hoa thì với 5-6 lá, và nó cũng có thể chịu được nhiệt độ -2 và -3 °C trong giai đoạn hình thành lá và thân. Nhiệt độ tốt nhất để xà lách phát triển là khoảng 16-20 °C (tùy thuộc vào về cường độ ánh sáng), và nhiệt độ trong khoảng từ 20 đến 22 °C là cần thiết để thân và hoa phát triển [93]. Trên 25 °C, một số loại xà lách xoăn không nảy mầm, lá rụng và đầu búp không hình thành tương ứng.

Xà lách xoăn cần nhiều ánh sáng, vì ánh sáng đủ sẽ ảnh hưởng đến thời kỳ sinh trưởng của cây. Trong điều kiện ngày dài, xà lách xoăn có thời kỳ sinh dưỡng ngắn và hình thành thân hoa trước khi hình thành đầu búp bình thường. Trong điều kiện như vậy, hầu hết các loại hình thành hoa, thân cành, và hoa được hình thành trên đầu búp của chúng, xếp thành chùm hoa. Trong điều kiện ngày ngắn (< 12 giờ), xà lách sẽ hình thành đầu búp. pH quá acid cần được hạn chế khi trồng xà lách xoăn. Các yếu tố như P góp phần đẩy nhanh quá trình hình thành rễ, trong khi K thúc đẩy sự hình thành các đầu búp. Nitrate kích thích sự phát triển và tăng sản lượng trồng trọt [86].

Xà lách xoăn cần độ ẩm cao (70- 80%), đặc biệt là trong quá trình mọc mầm và khi hình thành đầu búp. Tuy nhiên, cũng phải tránh độ ẩm quá cao, vì dễ dẫn đến bệnh tật. Xà lách xoăn phải được thu hoạch trong thời tiết mát, nhưng khô, vì nếu ướt lá dễ bị trở nên thay đổi.

#### **1.4.3. Bệnh và sâu hại chính trên xà lách xoăn**

Mối đe dọa lớn cho quá trình hình thành và phát triển của xà lách nói chung là *Pythium* và *Fusarium* [88, 94, 95]. *Pythium* và *Fusarium* xuất hiện rất phổ biến, đặc biệt là trong các luống xà lách được gieo hạt và trồng trong nhà kính, nơi có độ ẩm của môi trường và/ hoặc giá thể cao. Các nấm gây hại này tấn công xà lách ngay từ giai đoạn cây con, khiến rễ chúng trở nên đỏ đến nâu, trong khi lá trở nên vàng; xà lách bị biến màu và chết. Các cây bị ảnh hưởng bởi *Fusarium* không thể hình thành đầu búp, một khi phát hiện bệnh thì cây đã yếu, nếu cây có bất kỳ một vết tổn



thương nào ở rễ thì bào tử của nấm hại sẽ có thể xâm nhập vào bên trong rễ và từ đó nhân bản lên nhanh chóng. Bên cạnh đó, các nghiên cứu gần đây cũng đã cho thấy *Xanthomonas* cũng là tác nhân chính gây bệnh trên lá xà lách xoắn với các vết bệnh điển hình của bệnh đốm lá do vi khuẩn. Các vết bệnh trên lá không đều, nhỏ, có màu xanh nhạt đến đen và có đường kính từ 2 đến 5 mm.



*Hình 1.8.* Biểu hiện bệnh trên xà lách do *Xanthomonas*

(Nguồn: Yuan-Min Shen, [95])

Do vậy, điều quan trọng là phải ngăn chặn sự nhiễm và lây truyền của vi khuẩn hoặc vi rút trước khi chúng xâm nhập vào cây [96].

## CHƯƠNG II. THỰC NGHIỆM

### 2.1. Hóa chất, nguyên liệu, dụng cụ, thiết bị thực nghiệm

#### 2.1.1 Hóa chất, nguyên liệu

Trong nghiên cứu, các hóa chất được sử dụng như sau:

Bảng 2.1. Các hóa chất được sử dụng

STT	Tên hóa chất – Hãng cung cấp	Công thức hóa học
1	Calcium phosphate monobasic – Sigma-Adrich (> 95%)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$
2	Potassium sulfate – Sigma- Adrich (> 99%)	$\text{K}_2\text{SO}_4$
3	Ammonium nitrate – Sigma- Adrich (> 98%)	$\text{NH}_4\text{NO}_3$
4	Hydrogen peroxide solution – Sigma-Adrich, (> 34%)	$\text{H}_2\text{O}_2$
5	Nước cất 2 lần được cung cấp từ Trung tâm Phân tích – Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng	$\text{H}_2\text{O}$
6	Bình khí nitrogen – Sovigaz (99,99%)	$\text{N}_2$
7	Bình khí oxygen – Sovigaz (99,99%)	$\text{O}_2$
8	Bình air – 99,99%	
9	Bình khí argon – Sovigaz (99,99%)	Ar

Các nguyên liệu được sử dụng bao gồm:

Hạt xà lách xoăn (Tên khoa học: *Lactuca sativa* L.) được thu thập trong nông trại ở Quận Cái Răng, Tỉnh Cần Thơ, Việt Nam. Sau đó hạt được bảo quản trong lọ thủy tinh tối màu ở nhiệt độ phòng trước khi thí nghiệm.

Giá thể xơ dừa chưa qua xử lý (cung cấp bởi các nhà vườn tại Tỉnh Bến Tre).

### 2.1.2. Thiết bị - Dụng cụ

Các thiết bị, dụng cụ được sử dụng phục vụ cho nghiên cứu bao gồm:

Bảng 2.2. Các thiết bị, dụng cụ sử dụng

TT	Tên thiết bị	Thông số
1	Nguồn phát plasma lạnh	Tần số 1,5 kHz; điện áp 24 kV
2	Máy đo pH, độ dẫn điện, nhiệt độ HI-99130	Hanna Instruments HI991300/ Romania
3	Thiết bị đo điện tích lá: CI- 202	CID Bio-Science, Inc./ Mỹ
4	Máy ly tâm tốc độ cao:	Z32 HK (Hermle/ Đức)
5	Máy quang phổ	UV-1800, Shimadzu/ Nhật bản
6	Kính hiển vi điện tử quét	S4800, Hitachi/ Nhật bản
7	Cân điện tử 4 số lẻ	DV214C (Ohaus/ Mỹ
8	Kính hiển vi soi nổi	SZX12, Olympus – Nhật bản
9	Máy cất nước 2 lần Aquatron	A4000D (Bibby Scientific/ Anh
10	Thiết bị đo dòng	Current Monitor Model 4100 (Pearson Electronics, Mỹ)
11	Máy hiện sóng	Oscilloscope GW Instek GDS- 1102-U (Instek/ Đài Loan)
12	Que đo cao áp	HVP-28HF (Pintek/ Đài Loan
13	Thiết bị đo công suất tiêu thụ điện-	CAT II (Trung Quốc)
14	Tủ cấy vi sinh	AHC-4D8 Esco/ Singapore
15	Các dụng cụ thí nghiệm như: Thước đo, cốc thủy tinh, đĩa petri, kẹp gấp, giấy lọc, pipette...	
16	Các bộ kit phân tích chỉ tiêu hóa lý của nước hoạt hóa plasma: NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	

	Sera test kit, Đức; H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Hanna Instruments HI3844 test kit, Romania; O <sub>3</sub> , Hanna Instruments HI38054 test kit, Romania...	
--	---	--

Hình ảnh một số thiết bị đo đạc phục vụ trong nghiên cứu được thể hiện trong hình bên dưới:



a. Thiết bị đo diện tích lá      b. Kính hiển vi soi nổi      c. Kính hiển vi điện tử quét



d. Thiết bị đo dòng      e. Máy hiển sóng      f. Que đo cao áp

Hình 2.1. Hình ảnh một số thiết bị tiêu biểu

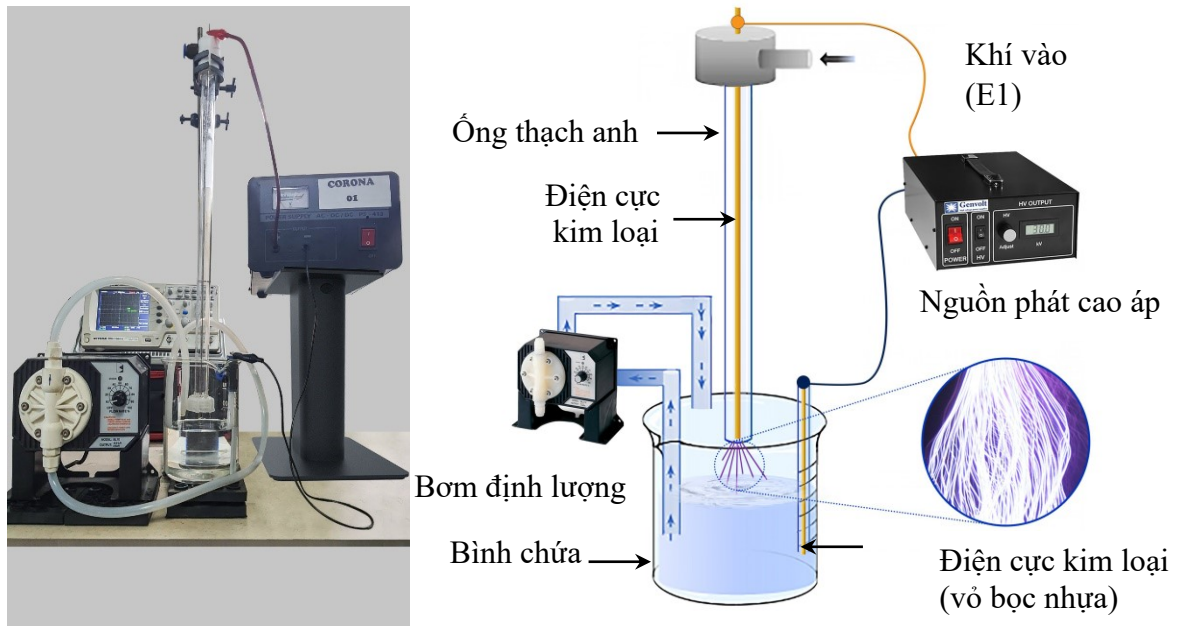
## 2.2. Xây dựng hệ phát plasma theo 2 kiểu phóng và đặc trưng điện học của chúng

### 2.2.1. Nguồn phát plasma

Nguồn phát plasma được thiết kế và chế tạo tại Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng là dạng nguồn xung cao áp có tần số 1,5 kHz; điện áp 24 kV.

### 2.2.2. Hệ phát plasma kiểu phóng trực tiếp (corona)

Sơ đồ thiết lập hệ phát plasma corona được trình bày trong hình 2.1 là hệ phóng tia plasma trong pha khí vào chất lỏng, được chế tạo bởi nhóm nghiên cứu thuộc Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng – Viện Hàn lâm Khoa học và công nghệ Việt Nam:

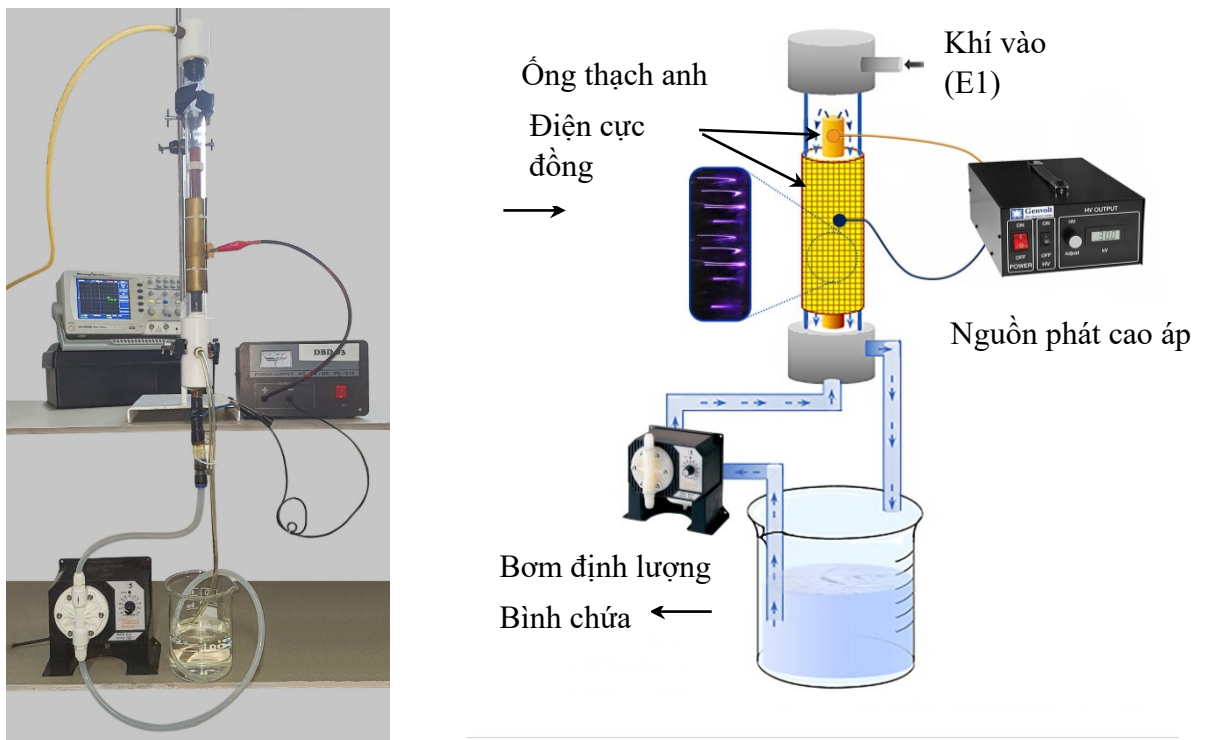


Hình 2.2. Sơ đồ thiết lập hệ thống plasma corona

Hệ thống nguồn tạo tia plasma cho phản ứng được tích hợp trong một bộ nguồn phát dạng nguồn xung cao áp có tần số 1,5 kHz; điện áp 24 kV. Thiết kế hệ thống tạo PAW bao gồm 01 điện cực kim loại dài 500 mm, đường kính 01 mm đặt cách mặt nước 12 mm. Vòi cấp khí có đường kính ngoài 20 mm, đường kính trong 16mm bao phủ điện cực bên trong. Khí vào và plasma được tạo ra sẽ theo đường ống này theo hướng từ trên xuống. Hỗn hợp khí bao gồm Ar, N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> được cung cấp vào thiết bị từ đỉnh của hệ phản ứng với tổng lưu lượng không đổi là 33 mL/phút. Điện cực còn lại bằng kim loại dài 150 mm, đường kính 01 mm nằm trong nước, được bao phủ bên ngoài bằng 1 ống nhựa cách điện. Máy bơm (P) được điều chỉnh lưu lượng nước để tạo ra dòng chảy có tốc độ 180 mL/ phút. Nước được chứa trong cốc thủy tinh.

### 2.2.3. Hệ phát plasma kiểu phóng gián tiếp qua lớp điện môi

Sơ đồ thiết lập hệ phát plasma gián tiếp - DBD (Dielectric Barrier Discharge) - được trình bày trong hình 2.2 là dạng ngược lại với hệ plasma ở phần trên là kiểu phóng trực tiếp plasma vào nước, trong hệ này plasma được phóng qua lớp điện môi bằng thạch anh được tạo bởi Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng – Viện Hàn lâm Khoa học và công nghệ Việt Nam:



Hình 2.3. Sơ đồ thiết lập hệ thống plasma DBD

Hệ thống nguồn tạo tia plasma cho phản ứng được tích hợp trong một bộ nguồn phát dạng nguồn xung cao áp có tần số 1,5 kHz; điện áp 24 kV. Hệ thống tạo PAW bao gồm 01 ống đồng dài 300 mm, đường kính ngoài 20 mm, đường kính trong 10mm đóng vai trò là điện cực, nằm bên trong, đồng trục với 01 ống thạch anh có đường kính ngoài 26 mm, đường kính trong 22 mm, chiều dài 11,3 cm. Bên ngoài ống thạch anh được quấn 01 lá đồng dài 120 mm, dày 0.5 mm được sử dụng làm điện cực thứ hai. Để tạo ra PAW, dung dịch đã được bơm định lượng (P) đưa vào từ đáy, chảy dọc theo bề mặt bên ngoài điện cực để sau đó được dẫn trở lại về phía bình thủy tinh thu gom. Máy bơm (P) được điều chỉnh lưu lượng nước để tạo ra dòng chảy có tốc độ 180 mL/phút. Hỗn hợp khí Ar, N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> được cung cấp vào thiết bị từ đỉnh của hệ phản ứng với tổng lưu lượng không đổi là 33 mL/ phút. Hỗn hợp không khí và nước cất đi vào buồng phản ứng theo hướng từ trên xuống, đi qua vùng plasma hoạt động, và hỗn hợp ra khỏi hệ phản ứng qua ống thoát.

#### 2.2.4. Đặc trưng điện học của hệ thống phát plasma

##### 2.2.4.1 Giới thiệu chung

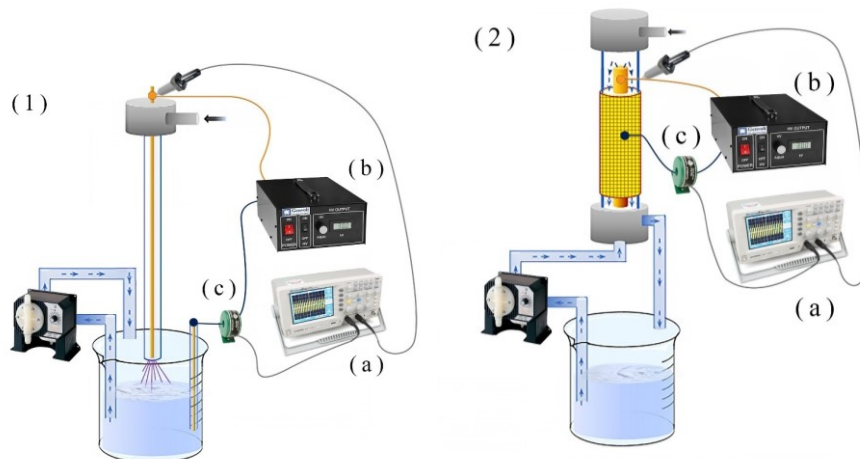
Hệ thống phát plasma là một thiết bị điện đặc biệt, đặc trưng bởi điện áp cao, dòng điện thấp và tần số thay đổi theo yêu cầu sử dụng. Công suất phóng điện, là

thước đo hiệu suất của hệ thống phát plasma, được điều chỉnh bởi giá trị của điện áp hoặc dòng điện, tùy thuộc vào loại phóng điện. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng các thông số điện áp, công suất và tần số phóng điện xác định năng lượng đầu vào của plasma, là một phần không thể tách rời của việc thiết lập plasma do đó ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả xử lý của PAW.

#### 2.2.4.2. Phương pháp đo đặc trưng điện của hệ phát plasma

Phương pháp bố trí các thiết bị đo đặc trưng điện của hệ phát plasma được bố trí như hình 2.3.

Các thiết bị đo bao gồm: Máy hiện sóng (Oscilloscope GW Intek) nhiệm vụ hiển thị đồ thị của tín hiệu thời gian điện áp và cường độ sáng. Thông tin điện áp được chuyển đổi thành thông tin số để tái cấu trúc thành dạng sóng được hiển thị trên màn hình. Thiết bị đo dòng (Current Pearson Electronics) và que đo cao áp Pintek được nối trực tiếp vào các kênh trên máy hiện sóng.



Hình 2.4. Bố trí các thiết bị đo các đặc trưng điện học của các hệ thống (1) Corona, (2) DBD với (a) máy hiện sóng oscilloscope (b) que đo áp (c) que đo dòng

### 2.3. Chế tạo và khảo sát các đặc trưng lý hóa của các mẫu PAW

#### 2.3.1. Kiểu phóng DBD

Thông số cố định: Tốc độ dòng khí tổng, bơm lưu lượng, nguồn phát, tổng lưu lượng dung dịch.

Thông số thay đổi: Các dòng khí kết hợp.

### **2.3.2. Kiểu phóng Corona**

Thông số cố định: Tốc độ dòng khí tổng, bơm lưu lượng, nguồn phát, tổng lưu lượng dung dịch. Thông số thay đổi: Các dòng khí kết hợp.

### **2.3.3. Khảo sát đặc trưng lý hóa của các mẫu PAW**

Trong luận án này, PAW được xác định các đặc trưng hóa lý trên cơ sở các thông số gồm: pH, độ dẫn điện (EC), ion  $\text{NO}_2^-$ , ion  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  và ozone.

#### **2.3.3.1. Giá trị pH**

Giá trị pH dùng để xác định môi trường của dung dịch là tính acid hay bazơ hay trung tính. Giá trị pH được đo bằng thiết bị HI-99130 (Hanna Instruments HI991300, Romania).

#### **2.3.3.2. Độ dẫn điện**

Độ dẫn điện thể hiện khả năng cho dòng điện chạy qua của dung dịch. Sự hiện diện của các chất có trong PAW liên quan đến độ dẫn điện. Trong nghiên cứu của luận án này, độ dẫn điện của PAW được đo bằng thiết bị HI-99130 (Hanna Instruments HI9-91300, Romania).

#### **2.3.3.3. Nồng độ ion $\text{NO}_2^-$ , $\text{NO}_3^-$**

Nồng độ các ion có trong PAW được xác định dựa vào phản ứng màu và thang đo đã quy định sẵn trong bộ kit ( $\text{NO}_3^-$  Sera test kit, Đức).

#### **2.3.3.4. Nồng độ $\text{H}_2\text{O}_2$**

Nồng độ  $\text{H}_2\text{O}_2$  được xác định bằng phương pháp chuẩn (Hanna Instruments HI-3844 test kit, Romania).

#### **2.3.3.5. Nồng độ $\text{O}_3$ hòa tan**

Nồng độ  $\text{O}_3$  hòa tan được xác định bằng phương pháp chuẩn (Hanna Instruments HI-38054 test kit, Romania).

## **2.4. Chế tạo các mẫu chứa $\text{H}_2\text{O}_2$ , N, P, K, PAW và PAW kết hợp N, P, K**

Chế tạo mẫu  $\text{H}_2\text{O}_2$ : Trong mỗi thí nghiệm ảnh hưởng của  $\text{H}_2\text{O}_2$ , một lượng  $\text{H}_2\text{O}_2$  được tính toán với hàm lượng thay đổi từ 0 ppm đến 50 ppm pha trong nước



cát, dùng để ngâm và tưới hạt. Ký hiệu mẫu lần lượt là H0, H10, H20, H30, H40, H50. Tên mẫu được đặt trên cơ sở ghép tên H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> và hàm lượng đi kèm, ví dụ: H10, với “H” là H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, “10” là 10 ppm.

Chế tạo mẫu N, P, K: Trong mỗi thí nghiệm ảnh hưởng của N, P, K một lượng N, P, K được tính toán với hàm lượng thay đổi từ 0 ppm đến 200 ppm pha trong nước cát, dùng để ngâm và tưới hạt. Ký hiệu mẫu lần lượt là N10, N50, N100, N200 (với N); P10, P50, P100, P200 (với P) và K10, K50, K100, K200, (với K). Tên mẫu được đặt trên cơ sở ghép tên khoáng chất và hàm lượng đi kèm, ví dụ: N10, với “N” là Nitrogen, “10” là 10 ppm.

Chế tạo mẫu PAW: Mẫu nước được đưa vào bên trong hệ thống bơm định lượng chảy dọc theo bề mặt bên ngoài điện cực để sau đó được dẫn trở lại về phía bình thủy tinh thu gom. Trong mỗi thí nghiệm, mẫu nước cát được kích hoạt bằng plasma trong 5, 10, 15, 20, 25 và 30 phút. Ký hiệu mẫu lần lượt là PAW-5, PAW-10, PAW-15, PAW-20, PAW-25, PAW-30.

Chế tạo mẫu PAW kết hợp N, P, K: Mẫu PAW với thời gian hoạt hóa thích hợp với yêu cầu nghiên cứu sẽ được bổ sung lượng khoáng chất N hoặc P hoặc K được thay đổi hàm lượng từ 0 ppm đến 200 ppm, dùng để ngâm và tưới hạt. Ký hiệu mẫu lần lượt là PN20, PN40, PN60, PN80, PN100, PN200, (đối với N pha trong PAW); PP20, PP40, PP60, PP80, PP100, PP200 (đối với P pha trong PAW); PK20, PK40, PK60, PK80, PK100, PK200 (đối với K pha trong PAW). Mẫu đối chứng, ký hiệu: Ctrl, là mẫu nước cát. Tên mẫu được đặt trên cơ sở viết tắt của khoáng chất và hàm lượng, ví dụ: PN20, với “P” là nước hoạt hóa plasma, “N” là khoáng chất của Nitrogen và “20” là hàm lượng 20 ppm.

## **2.5. Thông số đánh giá quá trình nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn đầu của xà lách xoăn**

Hạt xà lách xoăn, trong nghiên cứu được thu thập trong nông trại ở quận Cái Răng, Thành phố Cần Thơ, Việt Nam và sau đó được bảo quản trong trong lọ thủy tinh tối màu ở nhiệt độ phòng trước khi tiến hành thí nghiệm.

### **2.5.1. Thông số đánh giá quá trình nảy mầm**

#### **2.5.1.1. Trọng lượng nghìn hạt**

Trọng lượng nghìn hạt là khối lượng tính bằng gram của 1.000 hạt với đơn vị là gam. Thông số này cho biết sơ bộ chất lượng hạt, đánh giá khả năng hút nước của hạt.

Cách thực hiện: Các mẫu khảo sát gồm 100 hạt được cân bằng cân phân tích ở các điều kiện mẫu khác nhau. Sau 2 giờ lấy mỗi mẫu 100 hạt ra để trên giấy lọc cho thấm hết phần nước đọng lại bên ngoài vỏ hạt sau đó cân lại. Thí nghiệm được lặp lại 4 lần. Từ trọng lượng 100 hạt tính ra trọng lượng nghìn hạt [97]

#### **2.5.1.2. Chiều dài phôi**

Chiều dài của phôi biểu thị gián tiếp tốc độ phát triển của hạt

Các mẫu dung dịch khảo sát vừa được tạo ra được sử dụng ngay. Hạt giống của xà lách xoắn được ngâm trong dung dịch thí nghiệm trong 2 giờ, 3 mL từng mẫu PAW được rót vào các đĩa petri có chứa sẵn hạt giống. Sau 2 giờ ngâm, hạt giống F1 được lấy ra gieo vào các đĩa petri chứa giấy lọc Whatman #1 (87 g/m<sup>2</sup>) đã được làm ẩm bằng 01 mL mẫu dung dịch khảo sát (cùng loại với lúc ngâm hạt). Mỗi đĩa petri chứa 20 hạt giống xếp theo hàng để dễ quan sát và theo dõi. Các đĩa chứa hạt giống đã gieo được đặt trong điều kiện 30 °C ± 2 °C, chu kỳ 16 giờ sáng/ 8 giờ tối, độ ẩm tương đối 80% và cường độ ánh sáng là 1.500 lux. Việc quan sát, đo đạc, đánh giá chiều dài phôi được thực hiện vào các khoảng thời gian 8 giờ, 24 giờ sau khi đặt hạt vào đĩa. Sử dụng kính hiển vi soi nổi: SZX12 (Olympus – Nhật bản) để quan sát đánh giá sự thay đổi của phôi.

#### **2.5.1.3. Tỷ lệ nảy mầm hạt**

Các tác động khác nhau của PAW đối với sự phát triển của thực vật bị chi phối bởi nhiều yếu tố kết hợp khác nhau như loài thực vật, kiểu plasma, thời gian xử lý, chất lượng nước, điều kiện thí nghiệm

Ngâm hạt bằng các mẫu dung dịch đã được chuẩn bị sẵn trong các đĩa petri (01 mẫu nước/ đĩa). Sau 02 giờ đem gieo hạt trên đĩa petri có chứa giấy lọc đã được làm ẩm bằng 03 mL các loại dung dịch thí nghiệm tương ứng (20 hạt/ đĩa). Các đĩa

được để ở nhiệt độ  $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ , điều kiện chiếu sáng 16 giờ sáng/ 8 giờ tối. Thí nghiệm với 04 lần lặp lại, mỗi lần 20 hạt. Tỷ lệ nảy mầm (Rg) sau 24 giờ (Hạt nảy mầm được xác định khi rễ kéo dài khỏi phôi khoảng 01 mm) được tính theo công thức:

$$\text{Rg(\%)} = \text{Số hạt nảy mầm} / \text{Tổng số hạt gieo} \quad (2.1)$$

## **2.5.2. Thông số đánh giá quá trình sinh trưởng giai đoạn đầu**

### **2.5.2.1. Chiều cao thân và chiều dài rễ**

Thân cây dẫn truyền nước và muối khoáng hoà tan từ rễ lên và chất hữu cơ từ lá xuống. Rễ là cơ quan sinh dưỡng của thực vật, hút nước và muối khoáng hoà tan cung cấp cho cây. Ở một số loài thực vật, rễ và thân là cơ quan dự trữ chất dinh dưỡng cho cây.

Cách thực hiện: Đo chiều dài thân và rễ vào ngày thứ 05 sau khi gieo. Chiều dài thân được xác định là chiều dài từ gốc cây đến đỉnh của chiếc lá cao nhất, và chiều dài rễ được định nghĩa là chiều dài từ gốc cây đến đỉnh của rễ dài nhất.

### **2.5.2.2. Hàm lượng diệp lục (Chlorophyll)**

Ngoài diện tích lá, hàm lượng diệp lục là thành phần chủ yếu quyết định tốc độ quang hợp và sản sinh chất khô; nó cũng đóng vai trò như một chất chỉ thị quang hợp, duy trì sự sống của thực vật và tạo ra oxy và chất dinh dưỡng trong nông nghiệp.

Cách thực hiện: Hàm lượng chlorophyll a và b được đo bằng phương pháp đã được Lichtenthaler và Wellburn công bố [98]. Hàm lượng diệp lục trong lá được đánh giá thông qua hàm lượng chlorophyll a và b phương pháp phân tích quang phổ hấp phụ của dịch lá. Tổng lượng chất diệp lục được chiết xuất từ 1 g mô lá tươi, thu được vào ngày thứ 7, cho vào một chai Duran chứa 50 ml axeton (70% thể tích) và để trong khu vực tối trong 24 giờ. Sau đó, hỗn hợp được lọc bằng giấy lọc Whatman #1 (87 g/m<sup>2</sup>). Phổ hấp thụ của diệp lục a (Ca) và diệp lục b (Cb) ở bước sóng 645 nm và 662 nm được đo bằng máy quang phổ có độ phân giải cao Shimadzu UV- 1800. Hàm lượng (tính bằng µg/mL) của chiết xuất thực vật Ca và Cb được tính bằng cách sử dụng các hệ số hấp thụ cụ thể trong công thức sau đây,

trong đó  $A_{662}$  và  $A_{645}$  là độ hấp thụ của các giá trị điệp lục được đo tương ứng ở 662 nm và 645 nm.

$$\text{Chlorophyll a} = (11,75 * A_{662} - 2,35 * A_{645}) \quad (2.2)$$

$$\text{Chlorophyll b} = (18,61 * A_{645} - 3,96 * A_{662}) \quad (2.3)$$

Tổng hàm lượng điệp lục được biểu thị như sau:

$$\text{Tổng Chlorophyll} = 8.02 A_{662} + 20.2 A_{645} \quad (2.4)$$

Phân tích thống kê dữ liệu được biểu thị bằng giá trị trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn (SD) của các phép đo được thực hiện trên 4 thí nghiệm lặp lại.

#### 2.5.2.3. Tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi

Trọng lượng khô/ tươi đại diện cho lượng sinh khối được cây xanh tạo ra. Chất khô của rau bao gồm các phân tử sinh học (Lipid, protein và carbohydrate), khoáng chất, vitamin và các chất dinh dưỡng thực vật, ngoại trừ nước. Do đó, mối quan hệ giữa trọng lượng khô và trọng lượng tươi của lá cho thấy có bao nhiêu chất hữu cơ (cacbon) được tích lũy trong cây.

Cách thực hiện: Cây sau 07 ngày gieo được mang đi đo khối lượng. Trọng lượng tươi được xác định bằng khối lượng cây con (bao gồm cả lá, thân, rễ) đã được thấm khô bằng giấy lọc và cân bằng cân phân tích (g). Sau khi cân, các cây này được sấy ở nhiệt độ 150 °C sau 02 giờ hạ xuống 80 °C, cân lại cho đến khi trọng lượng không đổi. Khối lượng này cũng là trọng lượng khô của cây con (g). Từ 02 kết quả vừa cân, tính tỷ lệ trọng lượng khô/ trọng lượng tươi. Thí nghiệm lặp lại 04 lần, mỗi lần 15 cây mầm.

#### 2.5.2.4. Diện tích lá

Diện tích lá có tương quan chặt chẽ với hàm lượng điệp lục. Tăng diện tích lá hấp thụ ánh sáng là tăng cường độ quang hợp dẫn đến tăng tích lũy chất hữu cơ trong cây, tăng năng suất cây trồng.

Cách thực hiện: Diện tích lá, thu được ở ngày thứ 7, được đo bằng máy đo diện tích lá CI- 202. Vì diện tích của mỗi lá khác nhau, nên đo diện tích của 10 lá trong 1 nghiệm thức, sau đó tính trung bình.

Công thức tính diện lá:

$$\bar{a} = \frac{a_1 + a_2 + \dots + a_n}{n} = \frac{\sum a}{n} \quad (2.5)$$

Trong đó:

$\bar{a}$  : Số trung bình cộng

$a_1; a_2; \dots a_n$  : Số hạng trong dãy số

$n$  : Số các số hạng

#### 2.5.2.5. Ảnh hình thái

Ảnh hình thái được chụp bên trong buồng kín, nền màu đen hoặc trắng, bằng máy ảnh Nikon Coolpix S9100 tại các thời điểm theo dõi mẫu cây con.

### 2.6. Khảo sát ảnh hưởng của H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, N, P, K đối với quá trình nảy mầm và sinh trưởng ban đầu của xà lách xoăn

Để khảo sát quá trình nảy mầm của xà lách xoăn dưới ảnh hưởng của H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> và khoáng chất N, P, K với các hàm lượng chọn lựa, các thông số: Trọng lượng nghìn hạt, chiều dài phôi, tỷ lệ nảy mầm hạt được thực hiện như trong mục 2.5.1. Thí nghiệm được lặp lại 04 lần, mỗi lần 20 hạt trong cùng 01 điều kiện thí nghiệm.

Để khảo sát sự sinh trưởng dưới ảnh hưởng của H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> và khoáng chất N, P, K với các hàm lượng chọn lựa, các thông số: Chiều cao thân và chiều dài rễ, diện lục, tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi thực hiện như trong mục 2.5.2.

### 2.7. Khảo sát ảnh hưởng của PAW và PAW kết hợp với các khoáng đa lượng N, P, K cho quá trình nảy mầm và sinh trưởng

Để khảo sát quá trình nảy mầm trong giai đoạn đầu của xà lách xoăn dưới ảnh hưởng của PAW và PAW kết hợp với các khoáng đa lượng N, P, K với các hàm lượng chọn lựa, các thông số: Trọng lượng nghìn hạt, chiều dài phôi, tỷ lệ nảy mầm

hạt được thực hiện như trong mục 2.5.1. Thí nghiệm được lặp lại 0 lần, mỗi lần 20 hạt trong cùng 01 điều kiện thí nghiệm.

Để khảo sát sự sinh trưởng dưới ảnh hưởng của PAW và PAW kết hợp với các khoáng đa lượng N, P, K với các hàm lượng chọn lựa, các thông số: Chiều cao thân và chiều dài rễ, diệp lục, tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi thực hiện như trong mục 2.5.2.

## **2.8. Khảo sát khả năng kháng khuẩn, kháng nấm**

Trong nghiên cứu này, khả năng kháng khuẩn, kháng nấm của các mẫu được đánh giá thông qua 02 phương pháp là xác định hàm lượng ức chế tối thiểu (Minimum inhibitory concentration - MIC) và phương pháp đo đường kính vòng kháng khuẩn.

### **2.8.1. Phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)**

Với khuẩn *Xanthomonas* spp.: Dùng pipet hút 0,9 mL mẫu dung dịch chuẩn bị và 0,1 ml dung dịch khuẩn *Xanthomonas* spp. vào eppendorf. Lắc đều eppendorf bằng máy vortex trong 1 phút. Dùng pipet hút 0,1 ml hỗn hợp từ eppendorf trải lên đĩa thạch. Các đĩa thạch được úp ngược và ủ trong tủ ấm 32 °C. Sau 24 giờ, thực hiện đếm số khuẩn lạc xuất hiện trên đĩa thạch. Điểm MIC được xác định là nước hoạt hóa plasma ở thời gian ngắn nhất có số khuẩn lạc xuất hiện là dưới 03.

Với nấm *Fusarium* spp.: Nồng độ ức chế tối thiểu được thực hiện bằng phương pháp pha loãng. MIC được xác định là nước hoạt hóa plasma ở thời gian ngắn nhất không có vi nấm phát triển.

### **2.8.2. Phương pháp đo đường kính vòng kháng khuẩn**

Hút 100 µL dịch chứa vi sinh vật (*Xanthomonas* spp. hoặc *Fusarium* spp.) vào từng đĩa petri chứa môi trường MH (Mueller Hinton Agar), dùng que cấy trang trải đều dịch chứa vi sinh vật. Sau đó tạo những giếng nhỏ bằng dụng cụ tạo giếng, tiếp theo hút 0,15 mL dung dịch tạo bởi plasma lạnh ở các thời gian khác nhau vào từng giếng và để yên 15 phút cho dung dịch thử nghiệm khuếch tán trên môi trường

thạch. Ủ các đĩa petri ở nhiệt độ 32 °C, đo vòng kháng khuẩn xuất hiện trên đĩa thạch sau 24 giờ.

Khả năng kháng khuẩn của dung dịch tạo bởi plasma lạnh được xác định dựa vào đường kính vòng kháng khuẩn ( $\Delta D$ ) xuất hiện xung quanh lỗ thạch.

$$\Delta D = D - d \quad (2.6)$$

D: Đường kính vòng vô khuẩn (mm)

d: Đường kính lỗ thạch (mm)

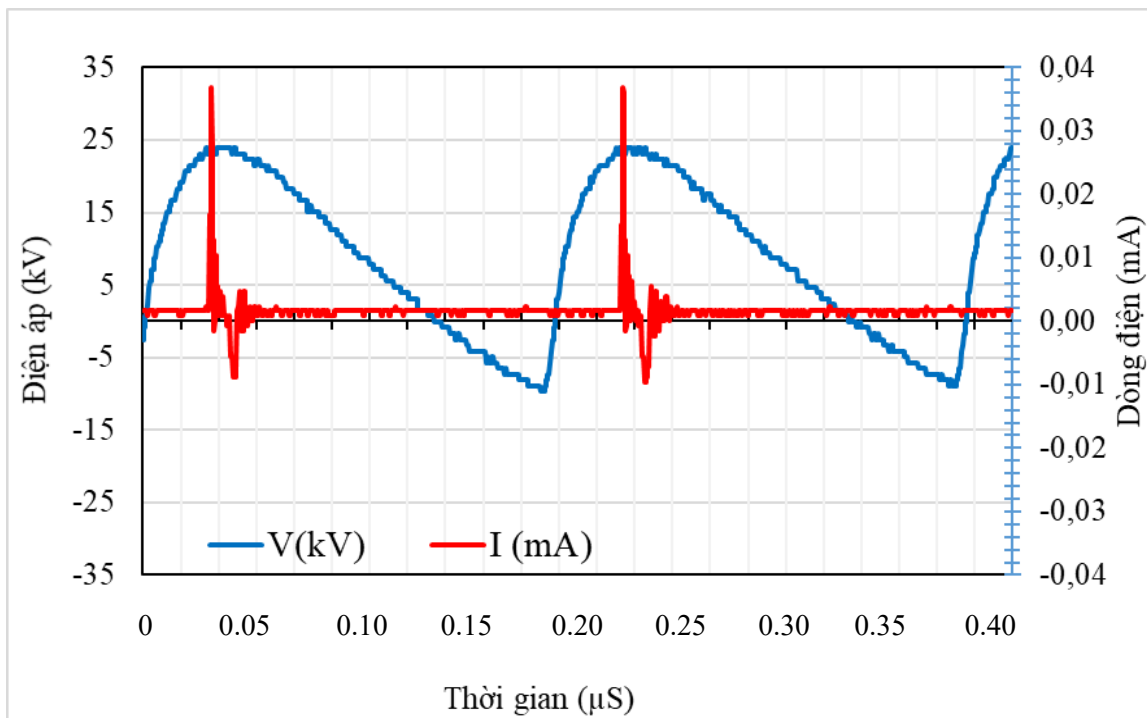
## 2.9. Tính toán và xử lý số liệu

Số liệu được thu thập, tổng hợp trên phần mềm Microsoft® Excel® 2019 MSO (16.0.14131.20278) 32 bit. Dữ liệu được phân tích thống kê bằng SPSS 17.0 cho Windows (SPSS, Chicago, IL). Độ lệch chuẩn được tính toán và phân tích để xác định sự khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa giữa các phương pháp xử lý với mức ý nghĩa  $p \leq 0,05$ . Tất cả các dữ liệu là giá trị trung bình của năm lần lặp lại ( $n = 4$ ) và các sai số ( $\pm SE$ ). Trong cùng 1 hàng/ cột giá trị có các mẫu tự theo sau khác nhau thì chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P \leq 0,05$ ) theo phép thử Duncan.

## CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Đánh giá về đặc trưng điện học của hệ plasma

Trong luận án này, hệ thống phát plasma bao gồm hai phần: Lò phản ứng (reactor) và nguồn phát cung cấp plasma với điện áp cố định là 24 kV, tần số 1,5 kHz. Với hệ trên, đặc trưng điện học của plasma được đánh giá bằng cách phân tích trên máy hiện sóng theo dõi quá trình phóng plasma trên reactor theo thời gian. Kết quả về đặc trưng điện học của hệ plasma được chỉ ra ở hình 3.1

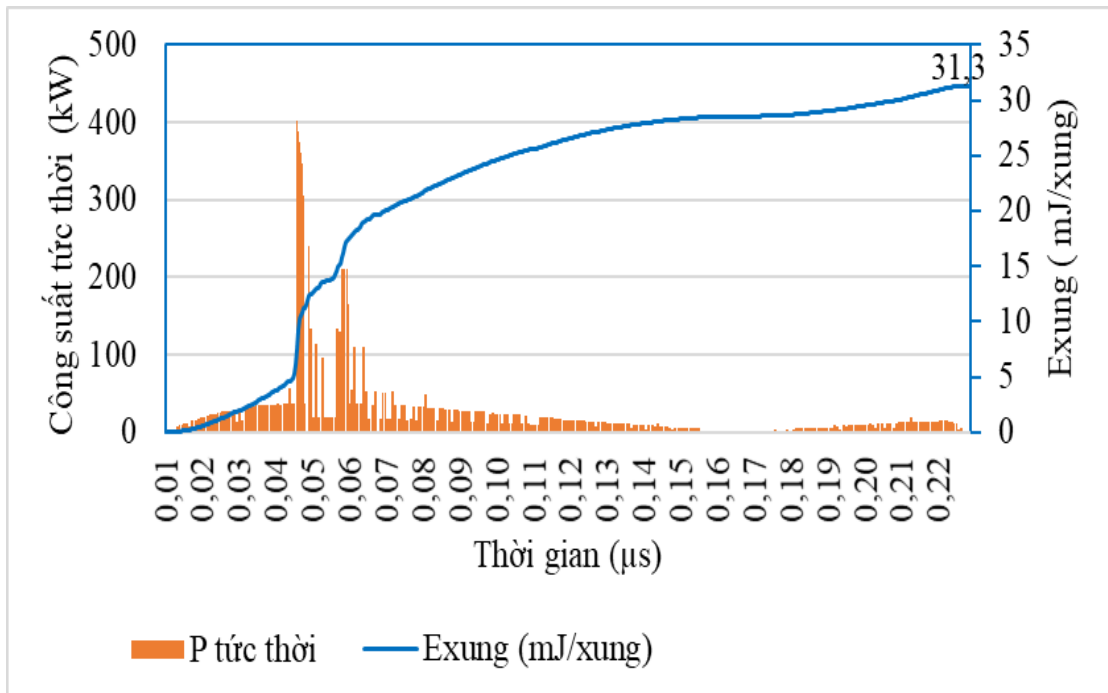


Hình 3.1. Biểu đồ biểu diễn đặc trưng điện áp và dòng điện của hệ phóng plasma lạnh được sử dụng

Từ hình 3.1 cho thấy, tia plasma phóng theo dạng xung, với điện áp mỗi xung cao nhất là 24 kV và dòng điện đạt giá trị tương ứng 0,038 mA cho mỗi xung. Trên cơ sở xác định điện áp và dòng điện, chúng ta có thể tính được công suất tiêu thụ của hệ plasma.

Hình 3.2 chỉ ra công suất tức thời và năng lượng trong một xung dựa vào điện áp và dòng điện tính toán được từ hình 3.1. Kết quả cho thấy mặc dù công suất tức thời của đỉnh xung là 401,5 kW nhưng năng lượng tạo ra trên mỗi xung chỉ đạt 31,3 mJ/ xung.





Hình 3.2. Biểu đồ biểu diễn công suất tức thời và năng lượng của hệ phóng plasma lạnh được sử dụng

Công suất tiêu thụ điện của hệ plasma khá thấp, được tính theo công thức sau:

$$P(W) = E \text{ xung} \cdot f$$

với  $f$ : Tần số của thiết bị (1,5 kHz)

$$E \text{ xung} = 31.3 \text{ mJ}$$

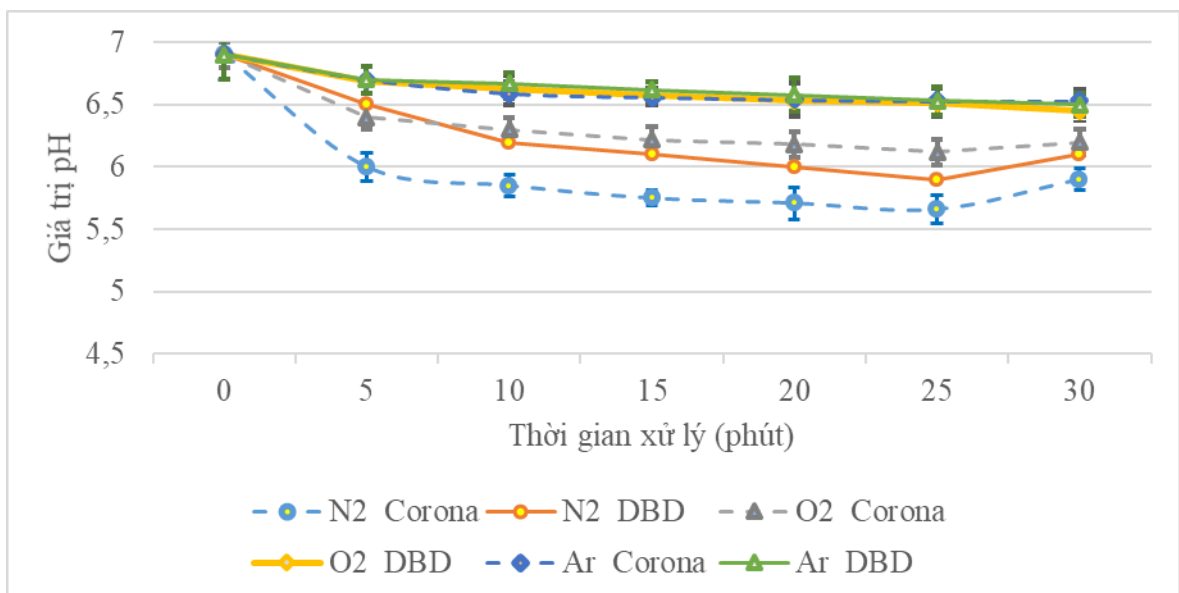
Vậy công suất tiêu thụ của hệ thống phóng plasma tính theo lý thuyết trên là 47 W. Kết quả tương tự cũng được chỉ ra khi sử dụng thiết bị đo công suất tiêu thụ CAT II để kiểm tra thực tế công suất tiêu thụ điện.

### 3.2. Môi quan hệ giữa tính chất lý hóa của mẫu nước và kiểu phóng

#### 3.2.1. Giá trị pH

Trong nghiên cứu này, tính acid của mẫu nước được xác định thông qua việc đo giá trị pH. Sự thay đổi giá trị pH của PAW theo thời gian xử lý trong 30 phút cho mẫu đơn khí và kiểu phóng khác nhau được chỉ ra ở hình 3.3.

Cho trường hợp kiểu phóng plasma corona, với tất cả các mẫu có đầu vào là đơn khí khác nhau đều chỉ ra giá trị pH có xu hướng giảm theo thời gian. Theo đó, thông số này có giá trị giảm mạnh trong khoảng 10 phút đầu tiên, giảm mạnh nhất với mẫu có khí đầu vào chứa N, từ đối chứng 6,9 xuống 5,85, kể đến là mẫu có khí đầu vào chứa O<sub>2</sub> và Ar, theo thứ tự là 6,3 và 6,59. Điều này có thể được lý giải do trong trường hợp mẫu có khí đầu vào là N có sự hình thành của hợp chất mang tính acid của N nhiều hơn các hợp chất còn lại. Nghiên cứu của P. Lukes và cộng sự cũng cho lý giải tương tự [11]. Sau 10 phút, giá trị pH của tất cả các mẫu đều có xu hướng tiếp tục giảm nhẹ không đáng kể. Điều này cho thấy, các hợp chất có tính acid trong mẫu nước được hấp thụ gần giá trị bão hòa. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu khác của L. Brisset và cộng sự [17].



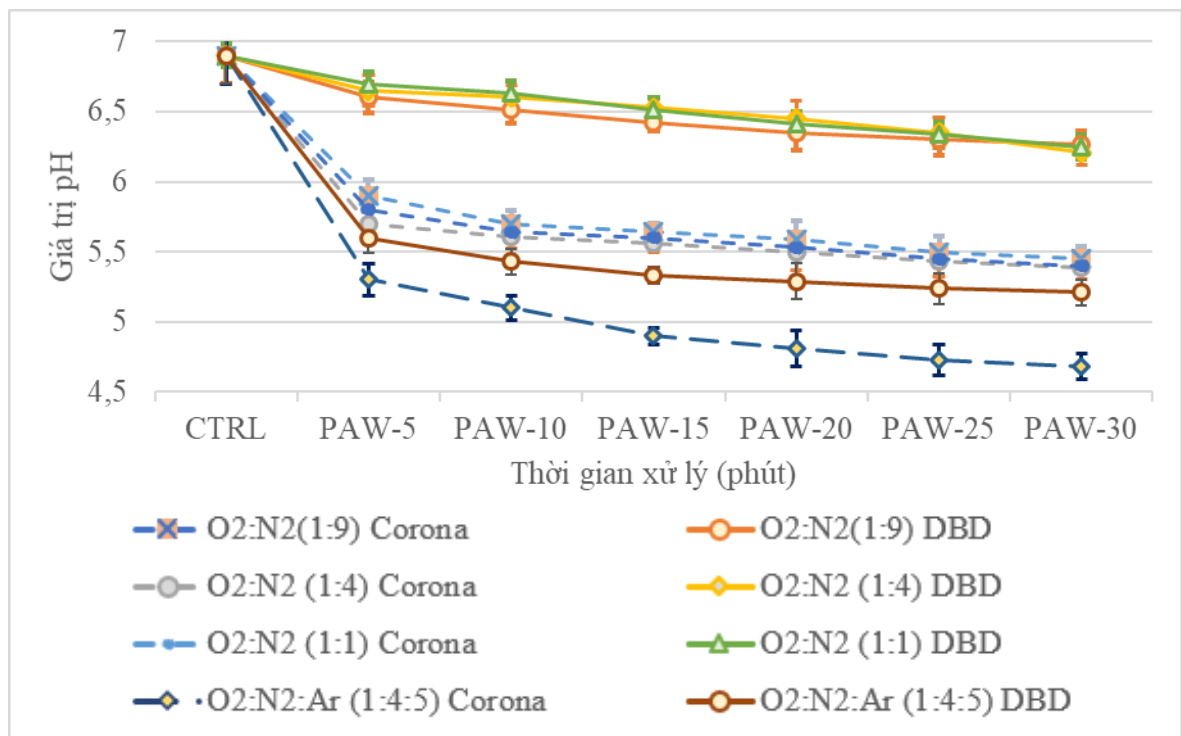
Hình 3.3. Biểu đồ biểu diễn giá trị pH của PAW với kiểu phóng và thời gian xử lý khác nhau cho đơn khí

Cho trường hợp kiểu phóng plasma DBD, kết quả cũng tương tự như trường hợp plasma corona, với tất cả các mẫu có đầu vào là đơn khí khác nhau đều chỉ ra giá trị pH có xu hướng giảm nhẹ trong 10 phút đầu tiên, giảm mạnh nhất với mẫu có khí đầu vào chứa N, từ đối chứng 6,9 xuống 6,2, kể đến là mẫu có khí đầu vào chứa O<sub>2</sub> và Ar kết quả gần như tương tự nhau, theo thứ tự là 6,63 và 6,67. Sau 10 phút, xu hướng giảm nhẹ đến dần ổn định vẫn tiếp tục diễn ra trong 30 phút khảo sát. Xu hướng này cũng tương tự như khảo sát trong nghiên cứu của K. Oehmigen và cộng sự [5], R. Ma và cộng sự [98]. Cũng như trường hợp kiểu phóng plasma corona,

với mẫu có khí đầu vào là N, do kết quả của sự hình thành và phản ứng của các ion trong dung dịch mang tính acid trong nước của N nhiều hơn các hợp chất còn lại, dẫn đến giá trị pH bị giảm dần và giảm nhiều nhất. Nghiên cứu của P. Bruggeman và cộng sự cũng cho thấy kết quả tương tự [99].

So sánh ở 2 trường hợp, giá trị pH của các mẫu trong cùng thời gian phóng luôn cho giá trị thấp ở trường hợp plasma corona. Thật vậy, với kiểu phóng plasma corona, sự hình thành ở nồng độ cao các hợp chất chứa acid là do khả năng phóng plasma trực tiếp giữa pha rắn và lỏng, trong khi với kiểu phóng gián tiếp qua lớp điện môi của plasma DBD sẽ hình thành mật độ các hợp chất thấp hơn. Kết quả cũng phù hợp với nghiên cứu khác [3, 100].

Giá trị pH khi thay đổi tỉ lệ phối trộn các đơn khí khác nhau cũng được nghiên cứu và đánh giá. Hình 3.4 bên dưới biểu diễn giá trị pH của PAW với thời gian xử lý thay đổi từ 5 đến 30 phút cho mẫu hỗn hợp khí và tỉ lệ phối trộn khác nhau theo thời gian.

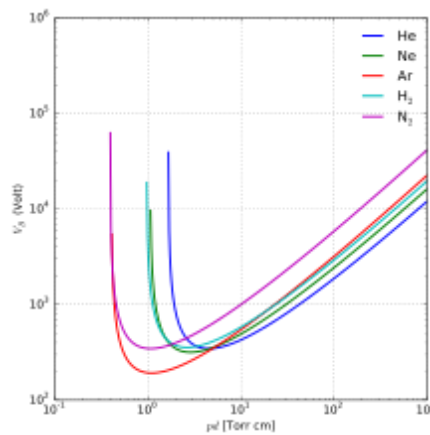


Hình 3.4. Biểu đồ biểu diễn giá trị pH của PAW với kiểu phóng và thời gian xử lý khác nhau cho hỗn hợp khí

Đối với các mẫu được tạo nên bởi sự kết hợp của 2 kiểu phóng, trong trường hợp mẫu có không khí, không có sự xuất hiện của Ar, xu hướng giảm mạnh vẫn

diễn ra trong 10 phút đầu tiên, sau đó tiếp tục giảm nhẹ khi thời gian tăng dần lên. Việc giảm giá trị pH có thể do các hợp chất tạo acid như nitrite, nitrate được sinh ra, làm thay đổi pH trong quá trình hình thành PAW. Khi hàm lượng các hợp chất được sinh ra này càng cao, càng làm giá trị pH giảm. Điều này cũng được lý giải tương tự như nghiên cứu của J.L. Brisset và cộng sự [13].

Với các mẫu có tỷ lệ giữa  $N_2/O_2$  thay đổi, ở tất cả các mẫu đều cho thấy sự khác biệt không nhiều. Tuy nhiên, khi bổ sung argon vào với tỉ lệ  $O_2:N_2:Ar = 1:4:5$  cho thấy sự khác biệt đáng kể. Điều này có thể lý giải bởi sự có mặt của argon khi phối trộn vào hỗn hợp khí được tạo ra bởi  $N_2$  và  $O_2$  làm tăng khả năng phóng điện, tăng cường sự ion hóa phân tử theo đường cong Paschen trong lý thuyết plasma (hình 3.5). Nhận định này cũng phù hợp với các nguyên cứu của nhóm B. Chiad [101], W. Helmar W. [102].



Hình 3.5. Đường cong Friedrich Paschen cho một số khí

(Nguồn: S. Das, [103])

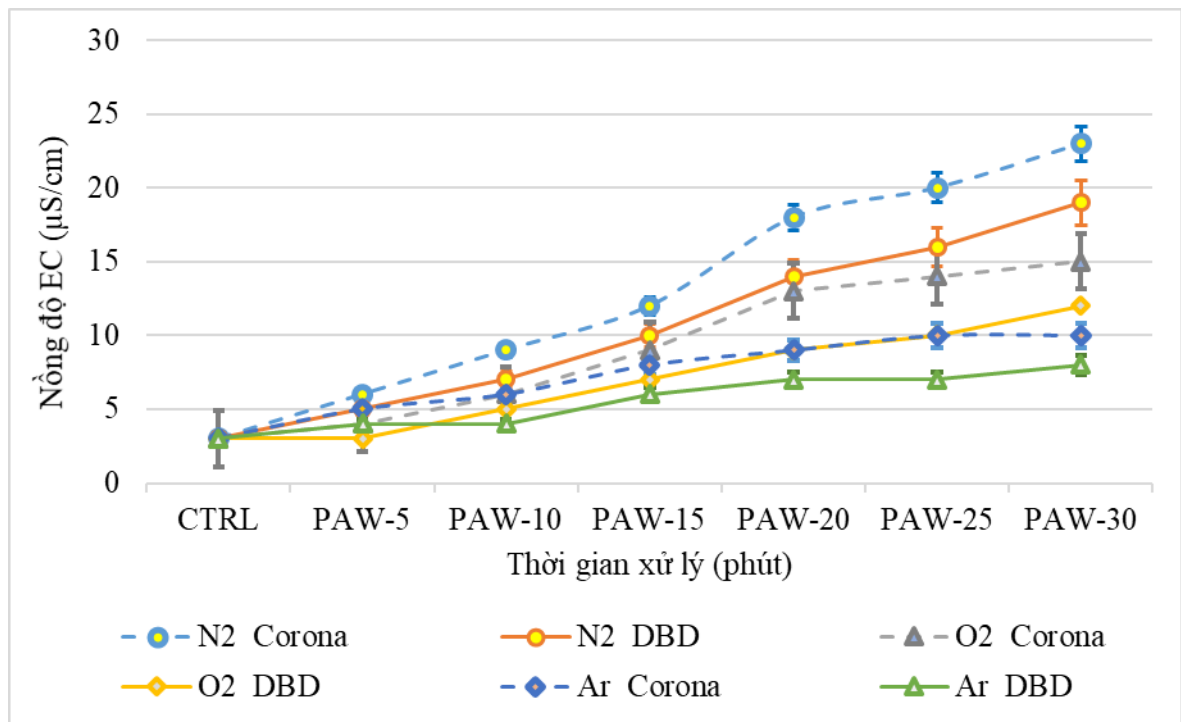
Từ các kết quả cho thấy với 2 kiểu phóng, để hình thành PAW, giá trị pH có xu hướng giảm khi tăng thời gian xử lý. Việc giảm giá trị pH liên quan đến sự hình thành các hợp chất có tính acid trong PAW ( $H_2O_2$ , ozone hòa tan và acid  $HNO_x$ ) được sinh ra từ các kiểu thiết kế plasma (DBD, corona...), điện áp và dòng điện, khí đầu vào.

### 3.2.2. Nồng độ EC và nhiệt độ

Giá trị EC của các mẫu PAW với thời gian xử lý khác nhau cho đơn khí và hỗn hợp khí cũng được phân tích, đo đạc trong luận án. Hình 3.6 biểu diễn nồng độ

EC của các mẫu PAW với thời gian xử lý khác nhau cho đơn khí trong khi hình 3.7 cho hỗn hợp khí.

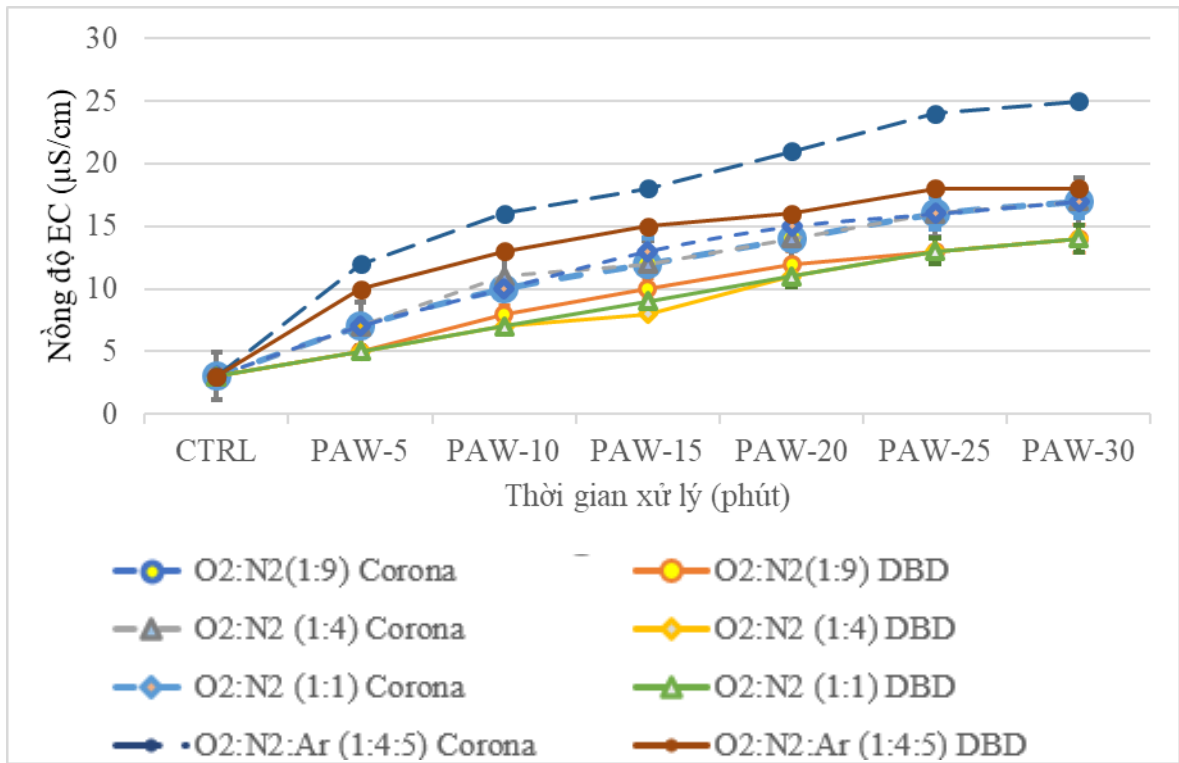
Ở cả 2 hình đều cho thấy xu hướng, giá trị EC của tất cả các mẫu đều tăng dần. Ngoại trừ 5 phút đầu tiên, độ dẫn điện tăng tuyến tính khi tăng thời gian kích hoạt plasma trong phạm vi bao gồm các giá trị từ 5 đến 22  $\mu\text{S}/\text{cm}$  tương ứng với 10 và 30 phút. Độ dẫn cao nhất phù hợp với độ pH thấp nhất cho chính nó, vì cả hai thông số này tương quan với nhau. Điều này cũng phù hợp với nghiên cứu của Lukes và cộng sự [11].



Hình 3.6. Biểu đồ biểu diễn nồng độ EC của PAW theo thời gian cho đơn khí

Như vậy, nghiên cứu đã cho thấy phần lớn của sự gia tăng độ dẫn điện có thể là sự gia tăng về hàm lượng hoặc thành phần của các hợp chất có trong nước. Nhận định này cũng tương đồng với một số nghiên cứu của nhóm Y. Tian [7], Lukes [11]. Tuy vậy, từ kết quả nghiên cứu cho thấy, theo thời gian, trong 10 phút đầu tiên, giá trị pH ở phần 3.2.1 giảm mạnh (tương ứng việc tăng mạnh của giá trị EC), sau đó có xu hướng giảm nhẹ; trong khi đối với giá trị EC, xu hướng tăng mạnh vẫn diễn ra, cho thấy có khả năng bên cạnh các hợp chất mang tính acid được sinh ra trong PAW theo thời gian, vẫn còn có sự xuất hiện của các hợp chất khác không mang

tính acid được sinh ra. Kết quả này cũng tương đồng với các nghiên cứu về độ dẫn và giá trị pH của PAW [10,11,17].



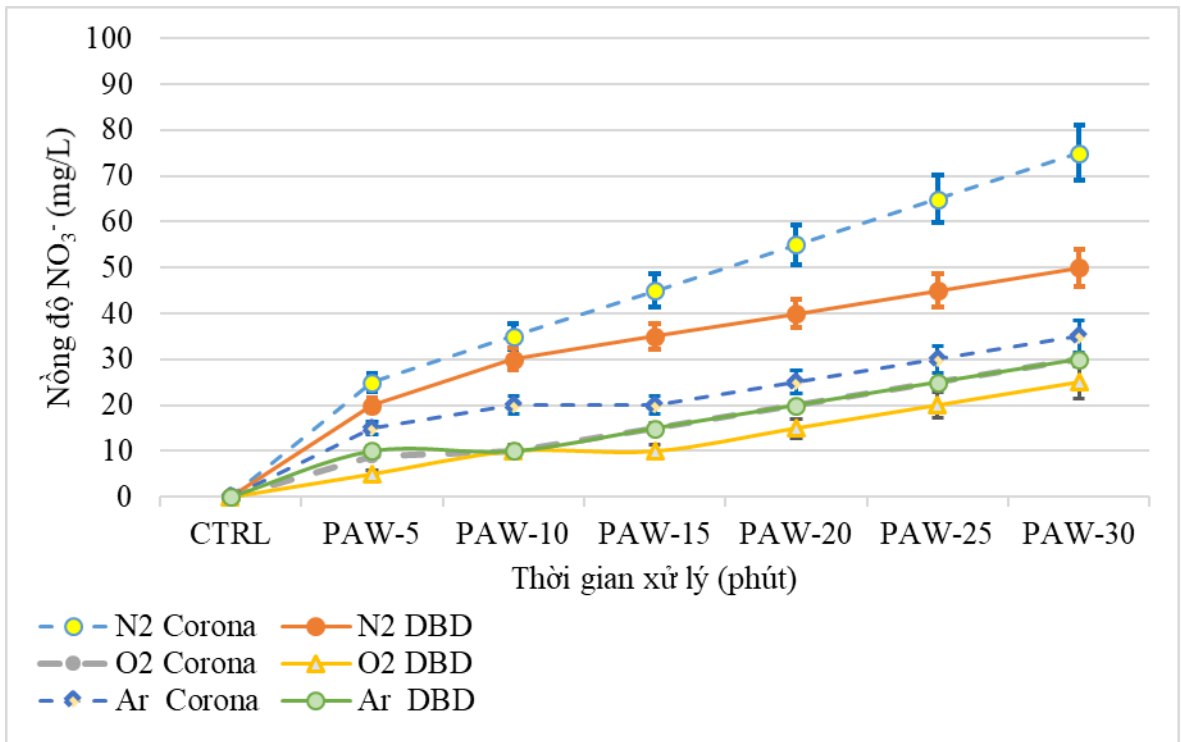
Hình 3.7. Biểu đồ biểu diễn hàm lượng EC của PAW theo thời gian cho hỗn hợp khí

Về thông số nhiệt độ của mẫu PAW: Kết quả nghiên cứu cho thấy nhiệt độ của các mẫu đều tăng nhẹ trong 30 phút xử lý bằng plasma ( $4^{\circ}\text{C}$ ). Điều này cho thấy hệ thống tạo plasma trong trường hợp này là phù hợp để sử dụng trong lĩnh vực khoa học sự sống, đặc biệt là nghiên cứu về nông nghiệp, nơi nhiệt độ là một thông số nhạy cảm. Trong công bố của nhóm L. Wang [104], J. Li [105] cũng cho thấy nhận định tương tự về nhiệt độ của hệ phát plasma phục vụ cho nông nghiệp.

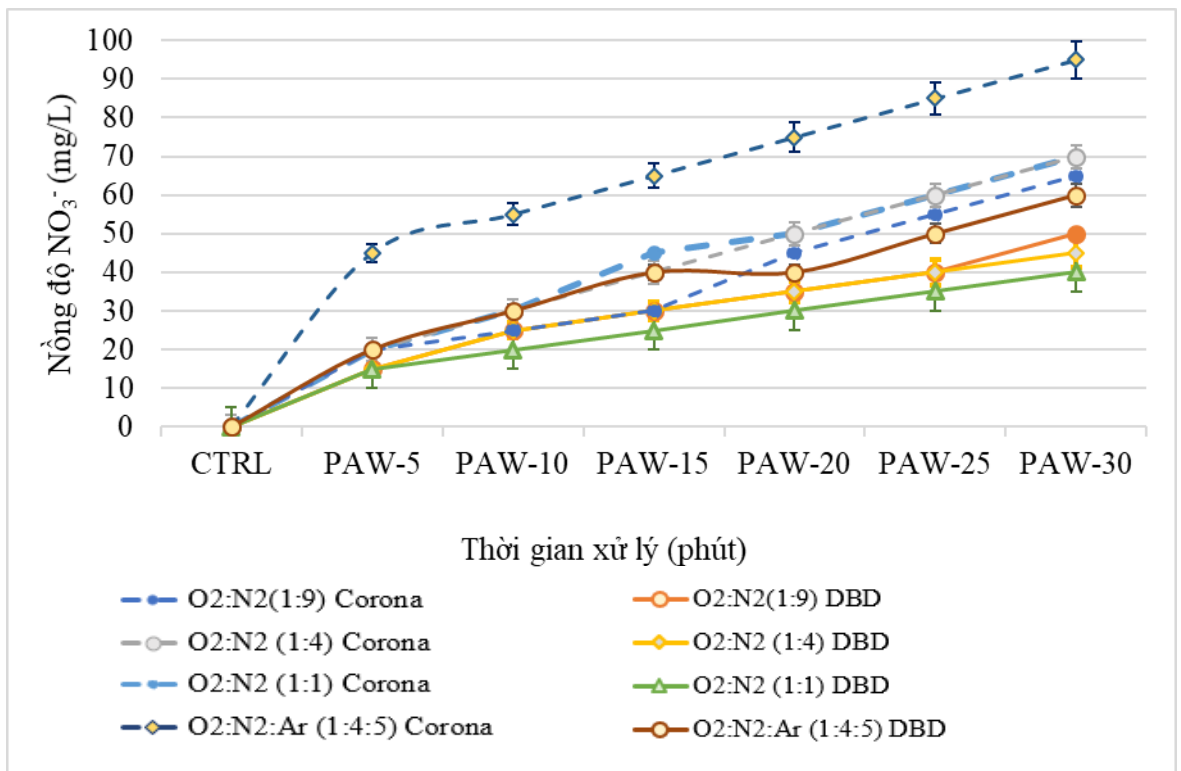
### 3.2.3. Các ion $\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_2^-$ , $\text{H}_2\text{O}_2$ , $\text{O}_3$

Trong nghiên cứu này, hàm lượng của các ion như  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  và các phân tử  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_3$  của các mẫu PAW được tạo ra trong 30 phút với điều kiện đơn khí và hỗn hợp khí cũng được nghiên cứu.

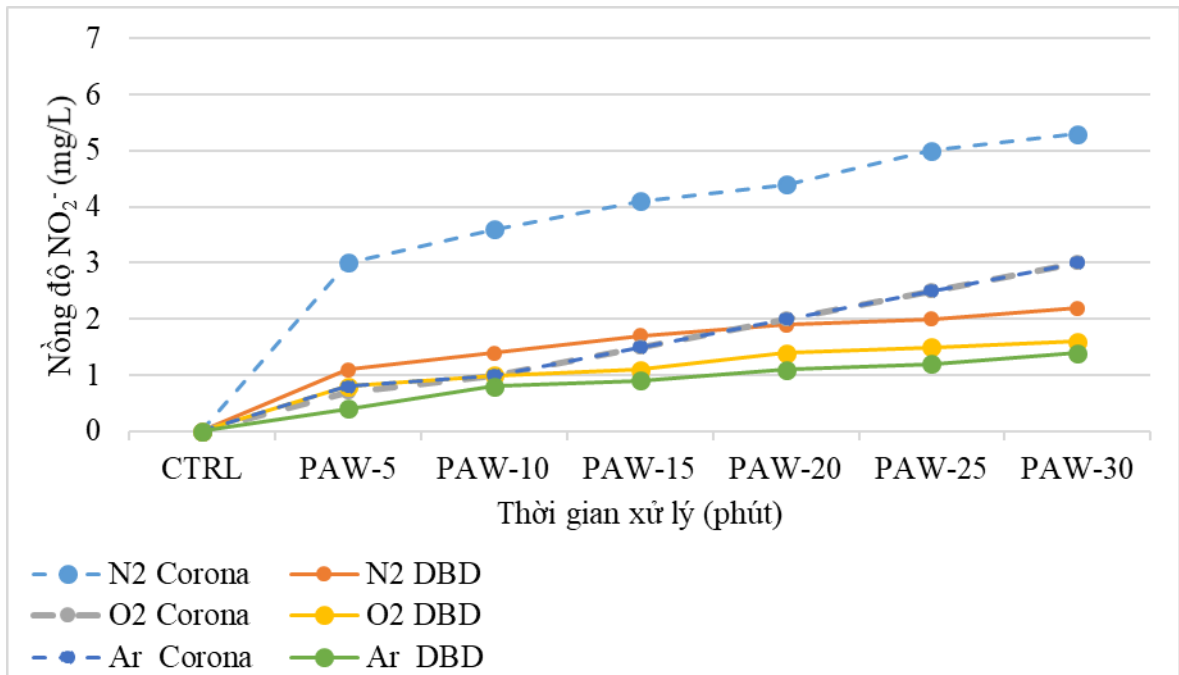
Biểu đồ biểu diễn hàm lượng ion  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  của các mẫu PAW trong các điều kiện thí nghiệm được chỉ ra trong hình 3.8 đến 3.11



Hình 3.8. Biểu đồ biểu diễn hàm lượng  $\text{NO}_3^-$  của PAW theo thời gian cho đơn khí



Hình 3.9. Biểu đồ biểu diễn hàm lượng  $\text{NO}_3^-$  của PAW theo thời gian cho hỗn hợp khí



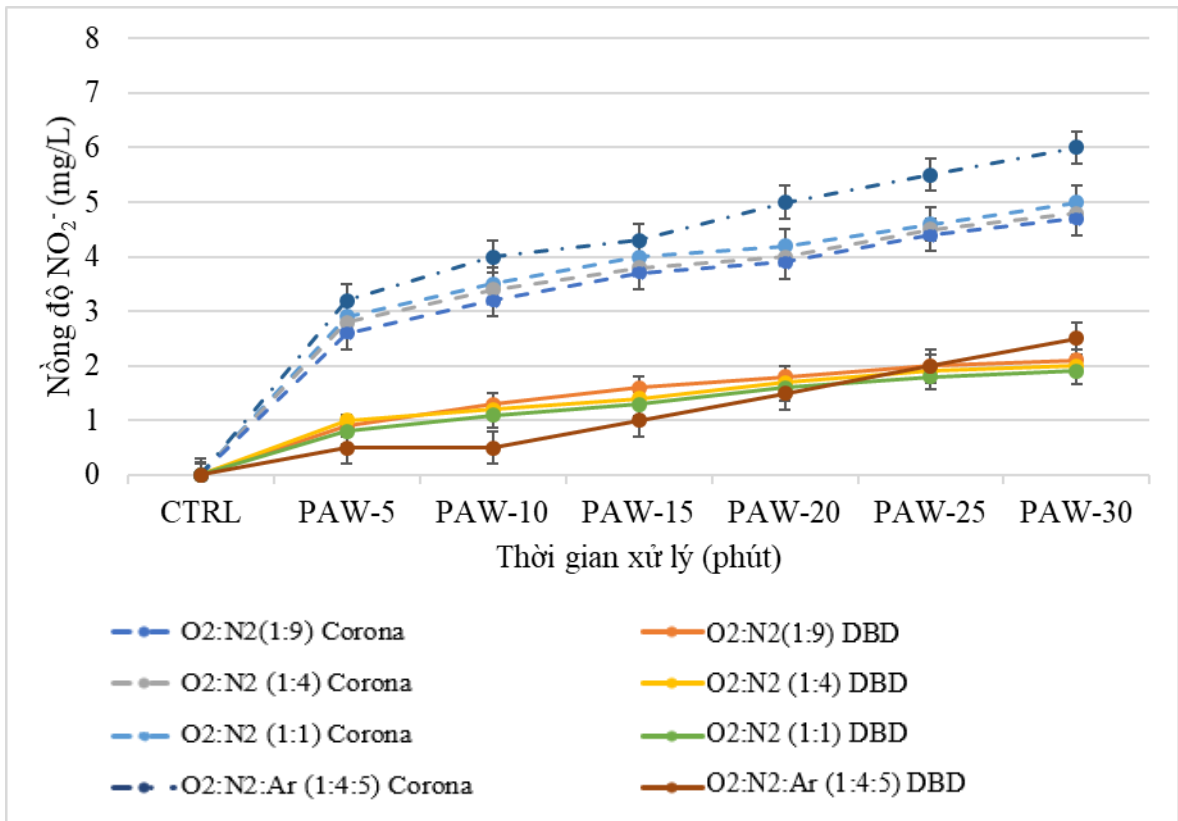
Hình 3.10. Biểu đồ biểu diễn hàm lượng  $\text{NO}_2^-$  của PAW theo thời gian cho đơn khí

Hình 3.8 đến 3.11 đều cho thấy cả 02 ion  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  đều tăng theo thời gian xử lý trong 30 phút. Tuy nhiên hàm lượng  $\text{NO}_3^-$  luôn cao hơn  $\text{NO}_2^-$  trong tất cả các trường hợp. Hàm lượng  $\text{NO}_2^-$  thấp có thể được giải thích là do quá trình chuyển hóa  $\text{NO}_2^-$  thành  $\text{NO}_3^-$  trong môi trường mang tính oxy hóa. Nghiên cứu của nhóm M.J. Traylor cũng đã cho thấy điều tương tự [106]. Khi bổ sung argon với tỉ lệ 1:1 so với các khí đầu vào khác, hàm lượng  $\text{NO}_3^-$  chỉ ra sự gia tăng đáng kể, gấp 2 đến 3 lần so với các mẫu có đầu vào chỉ đơn thuần là không khí.

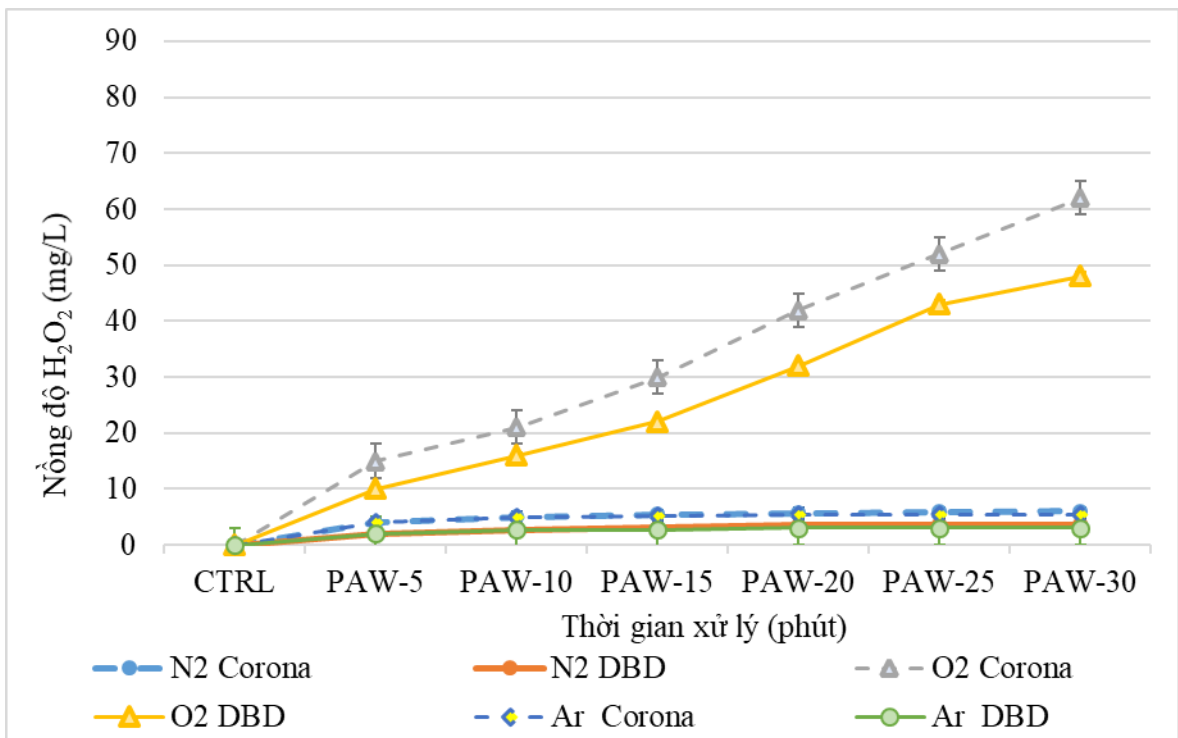
Bên cạnh các hàm lượng ion  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  được khảo sát trong các điều kiện khác nhau, việc hình thành  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_3$  cho các mẫu PAW trong các điều kiện thí nghiệm cũng được chỉ ra trong hình 3.12 và 3.13.

Như thể hiện trong biểu đồ 3.12 và 3.13, hàm lượng của  $\text{H}_2\text{O}_2$  có xu hướng tương tự như của  $\text{NO}_3^-$  khi thời gian xử lý plasma tăng lên: Từ 0 mg/L trong mẫu đối chứng lên giá trị cao nhất gần 90 mg/L ở lần xử lý plasma với thời gian 30 phút. Sự hình thành  $\text{H}_2\text{O}_2$  trong nước chủ yếu bắt nguồn từ phản ứng giữa hơi ẩm trong không khí hoặc nước trong dịch với tác nhân oxy hóa như  $\text{O}^\bullet$  và  $\text{OH}^\bullet$ .

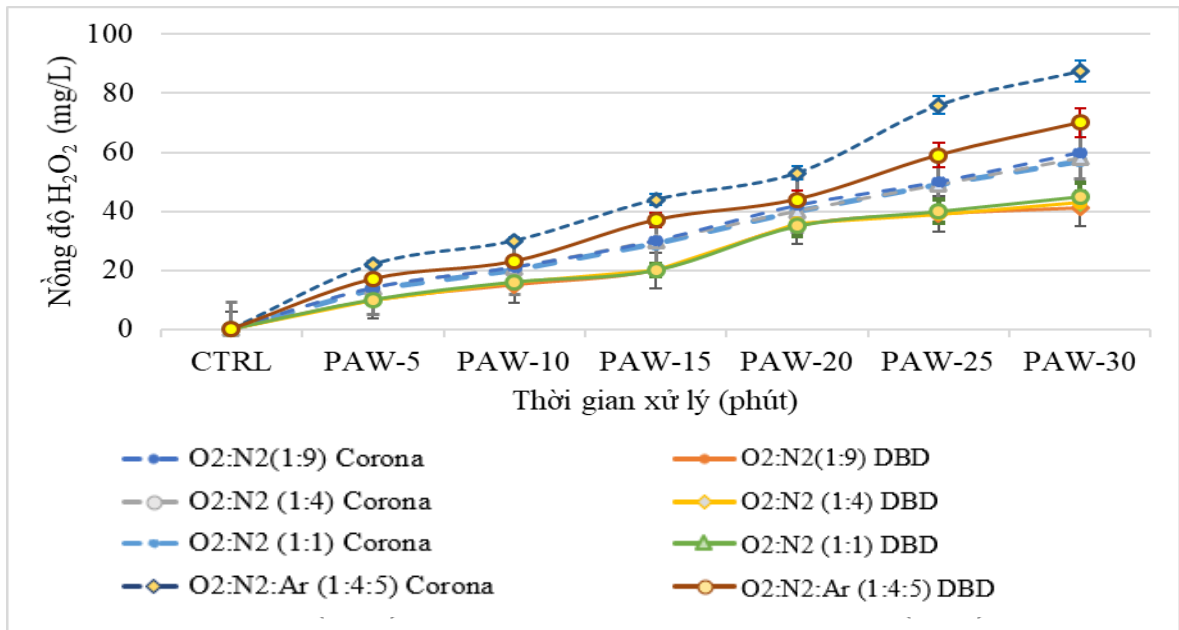




Hình 3.11. Biểu đồ biểu diễn hàm lượng  $\text{NO}_2^-$  của PAW theo thời gian cho hỗn hợp khí



Hình 3.12. Biểu đồ biểu diễn hàm lượng  $\text{H}_2\text{O}_2$  của PAW theo thời gian cho đơn khí



Hình 3.13. Biểu đồ biểu diễn hàm lượng H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> của PAW theo thời gian cho hỗn hợp khí

Với thông số lượng ozon hòa tan trong mẫu cho thấy có sự khác biệt không nhiều. Điều này cho thấy ozon hòa tan hấp thụ ít trong nước. Hàm lượng đo được cao nhất của ozon hòa tan cho các mẫu không vượt quá 0,4 mg/L trong 30 phút xử lý được thể hiện trong bảng bên dưới.

Bảng 3.1. Bảng giá trị hàm lượng ozone hòa tan của PAW theo thời gian

Thời gian hoạt hóa (phút)	Hàm lượng ozone hòa tan (mg/L)													
	N <sub>2</sub>		O <sub>2</sub>		Ar		O <sub>2</sub> :N <sub>2</sub> (1:9)		O <sub>2</sub> :N <sub>2</sub> (1:4)		O <sub>2</sub> :N <sub>2</sub> (1:1)		O <sub>2</sub> :N <sub>2</sub> :Ar (1:4:5)	
	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0,1	0	0	0	0	0,1	0,1	0,1
10	0	0	0,1	0,1	0,1	0	0,1	0,1	0,1	0	0,1	0,1	0,1	0,1
15	0	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1
20	0,1	0	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1
25	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,3	0,2
30	0,1	0,1	0,3	0,3	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,4	0,2

Ghi chú: “\*” kiểu phóng plasma Corona

“\*\*” kiểu phóng plasma DBD

### 3.3. Cơ sở lựa chọn các mẫu PAW định hướng ứng dụng cho nghiên cứu

Trong nông nghiệp, với đối tượng nghiên cứu là xà lách xoăn, đây là loại rau có tính thích nghi cao do vậy biểu hiện kiểu hình, hình thái, sinh lý của chúng cũng bị ảnh hưởng đáng kể bởi các điều kiện phát triển [89- 91]. Bên cạnh điều kiện ánh sáng, độ ẩm, các yếu tố nhiệt độ, dinh dưỡng (các chất được thêm vào từ bên ngoài), pH được coi là những điều kiện tác động quan trọng đối với sự phát triển của xà lách xoăn [91].

Như đã đề cập trong phần tổng quan, xà lách xoăn phát triển ở ngưỡng pH trung tính từ 5,5- 6,5. Ở pH thấp thì sự sinh trưởng và phát triển của xà lách xoăn bị tác động mạnh. Bên cạnh đó, các yếu tố dinh dưỡng như các khoáng đa lượng phosphorus góp phần đẩy nhanh quá trình hình thành rễ, potassium thúc đẩy sự hình thành các đầu búp, trong khi nitrate kích thích sự phát triển và tăng sản lượng trồng trọt [86].

Trên cơ sở các nghiên cứu và giá trị thực nghiệm sơ bộ với các kết quả khảo sát trên 02 hệ thống tạo PAW cho thấy:

- Đánh giá về nhiệt độ: Ngưỡng nhiệt độ đo đạt được trong thực tế giữa hệ plasma DBD và plasma corona cho thấy nhiệt độ phát sinh trong hệ thống DBD không thay đổi, chênh lệch nhiều so với nhiệt độ môi trường.
- Đánh giá về giá trị  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ : Các thông số này của các mẫu nước được tạo ra từ 2 kiểu phóng đều phù hợp cho các nghiên cứu sâu hơn của luận án.
- Đánh giá về giá trị pH: Ở 2 kiểu phóng plasma trong nước đều tạo ra các hợp chất mang tính acid, nhiều nhất cho kiểu phóng corona. Sự hiện diện của argon với tỉ lệ 50% (còn lại là  $\text{N}_2$  và  $\text{O}_2$ ), giá trị pH tối đa sau 30 phút cho 2 kiểu phóng plasma corona và plasma DBD lần lượt là 4.68 và 5.21, so với đối chứng là 6,9.
- Đánh giá về thành phần và tỉ lệ khí phối trộn: Nhìn chung cho trường hợp DBD, hỗn hợp khí là air và hỗn hợp air: argon ( $\text{O}_2$ ,  $\text{N}_2$  và Ar với tỉ lệ 1, 4, 5 theo thứ tự tương ứng) đều phù hợp cho nghiên cứu kế tiếp.

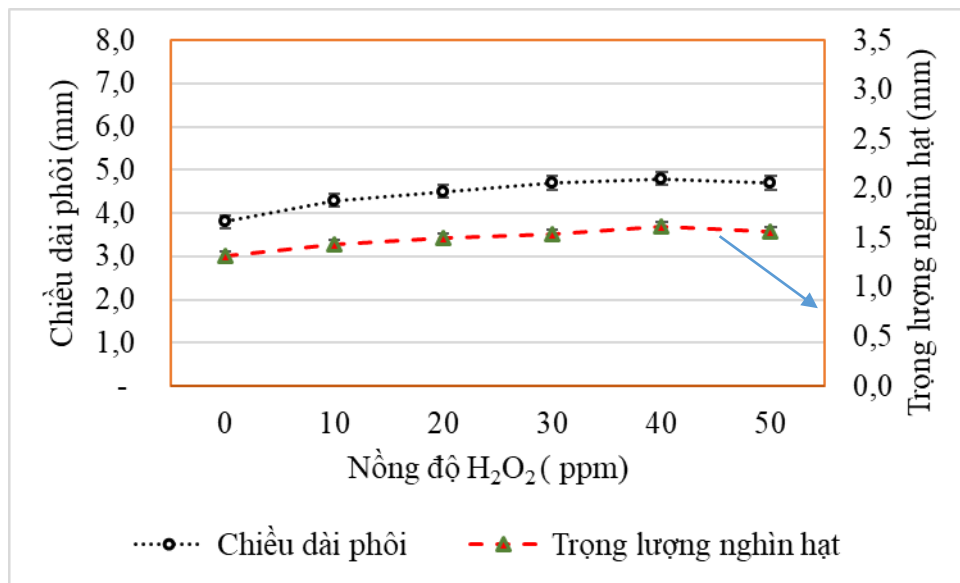
Từ các đánh giá trên cho thấy kiểu phóng plasma DBD là phù hợp hơn cho các nghiên cứu tiếp theo của luận án.

### 3.4. Khảo sát ảnh hưởng của H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, N, P, K đối với quá trình nảy mầm và sinh trưởng

#### 3.4.1. Ảnh hưởng của tác chất H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

##### 3.4.1.1. Quá trình nảy mầm

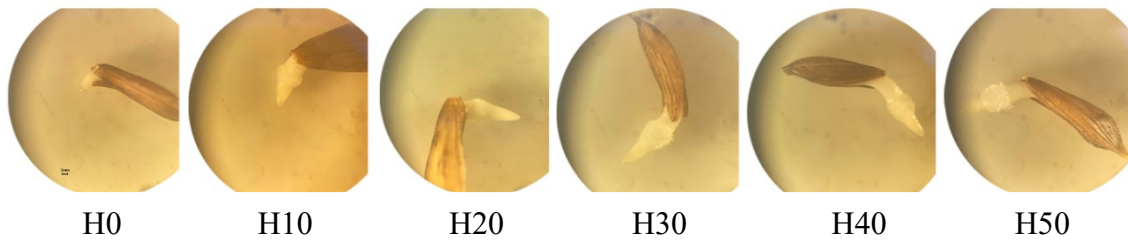
Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của hàm lượng H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> cho sự nảy mầm và sinh trưởng đã được khảo sát trên cây xà lách xoăn. Hình 3.14 biểu diễn các chỉ số nảy mầm của hạt bao gồm chiều dài phôi và trọng lượng nghìn hạt đối với H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ở các hàm lượng khác nhau.



Hình 3.14. Biểu đồ biểu diễn chiều dài phôi và trọng lượng nghìn hạt trong các mẫu xử lý H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ở các hàm lượng khác nhau

Từ hình 3.14 cho thấy đối với tất cả các trường hợp, trọng lượng hạt ngâm với H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> luôn cao hơn so với mẫu đối chứng và khi so với mẫu hạt khô ban đầu (tăng từ 58% đến 95%). Điều đó cho thấy để tạo điều kiện tốt nhất cho hạt nảy mầm thì quá trình này sẽ hấp thụ một lượng nước đáng kể. Nghiên cứu của A. Paez-Garcia cũng cho thấy để thực vật có thể phát triển, hạt giống cần hấp thụ một lượng nước trước khi bắt đầu nảy mầm [107].

Bên cạnh việc đo đạc trực tiếp, chiều dài của phôi cũng được quan sát bằng kính hiển vi soi nổi, kết quả thể hiện ở hình 3.15.

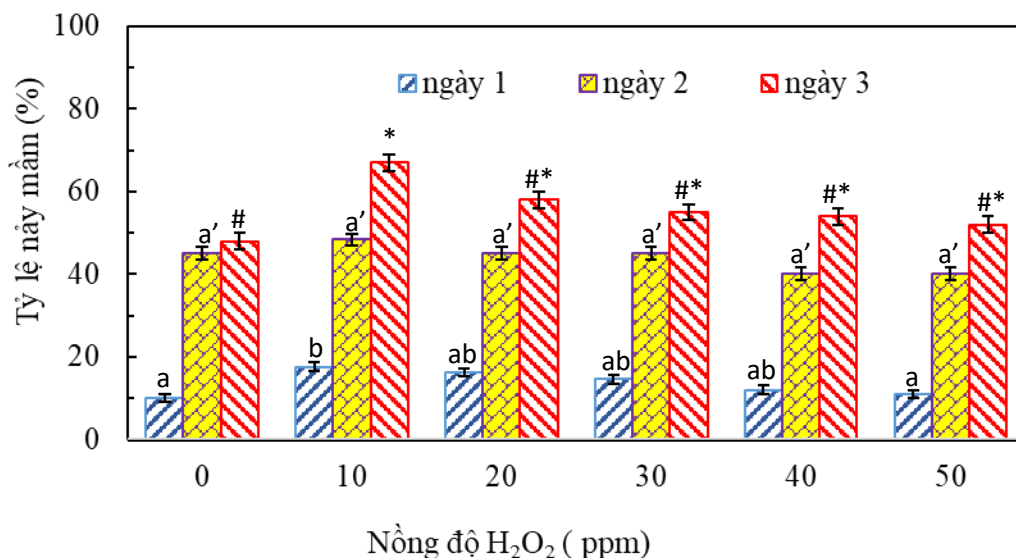


Hình 3.15. Ảnh chiều dài phôi của các mẫu với hàm lượng  $H_2O_2$  khác nhau sau 24 giờ

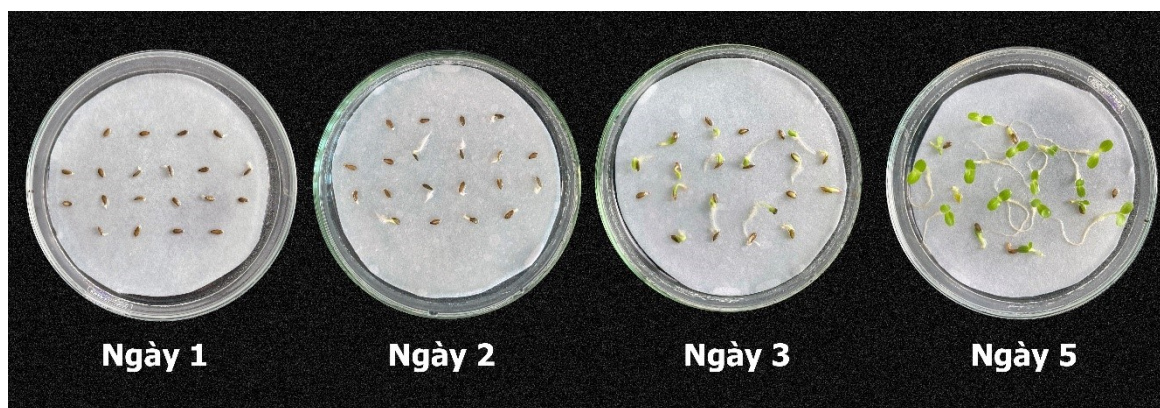
Hình chụp từ hình 3.15 cho thấy, hình ảnh phôi H0 (mẫu không có  $H_2O_2$ ) có chiều dài phôi ngắn nhất so với tất cả các mẫu. Chiều dài phôi của hạt ở mẫu H10 đã tăng 13%, và sau đó có xu hướng tăng đều cho đến H40 (26,3%). Khi sang mẫu H50, chiều dài phôi tuy vẫn tăng (23,7%), nhưng bắt đầu có xu hướng kém hơn mẫu H40. Kết quả trên cho thấy có sự tác động khác nhau của hàm lượng  $H_2O_2$  đối với chiều dài phôi của hạt từ đó dẫn đến sự phát triển khác biệt về sau của cây con. Nghiên cứu của tác giả Çavusoglu và cộng sự [60] cũng cho kết quả tương tự, khi dùng  $H_2O_2$  ở hàm lượng thấp sẽ tác động tích cực đến sự phát triển của cây con. Kết quả này cho thấy sự hiệu quả tích cực của  $H_2O_2$  khác biệt so với các nghiên cứu trước kia chỉ đề cập đến tác động có hại của  $H_2O_2$ . Thật vậy, ở hàm lượng cao,  $H_2O_2$  có tác động xấu đến phôi và quá trình nảy mầm cũng như phát triển của hạt sau này. Ở hàm lượng phù hợp, nhiều nghiên cứu trong thời gian gần đây cũng chỉ ra vai trò của  $H_2O_2$  như một phân tử tín hiệu trong thực vật hay là một trung tâm tích hợp mạng lưới tín hiệu để phản ứng với căng thẳng sinh học và phi sinh học [60, 100,108].

Ảnh hưởng của hàm lượng  $H_2O_2$  đến tốc độ nảy mầm của xà lách xoắn trong 3 ngày đầu được trình bày trong hình 3.16.

Kết quả cho thấy với  $H_2O_2$  ở các hàm lượng khác nhau đều có tác động lên hạt, giúp tăng tỷ lệ nảy mầm so với mẫu đối chứng. Chỉ với lượng 10 ppm  $H_2O_2$  được sử dụng, tốc độ nảy mầm hạt không ngừng gia tăng trong 3 ngày đầu và đạt ngưỡng cao nhất trong tất cả các mẫu xử lý, đạt 67 % (hình 3.16 và 3.17).



Hình 3.16. Biểu đồ biểu diễn tỷ lệ nảy mầm hạt trong các mẫu xử lý H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ở các hàm lượng khác nhau



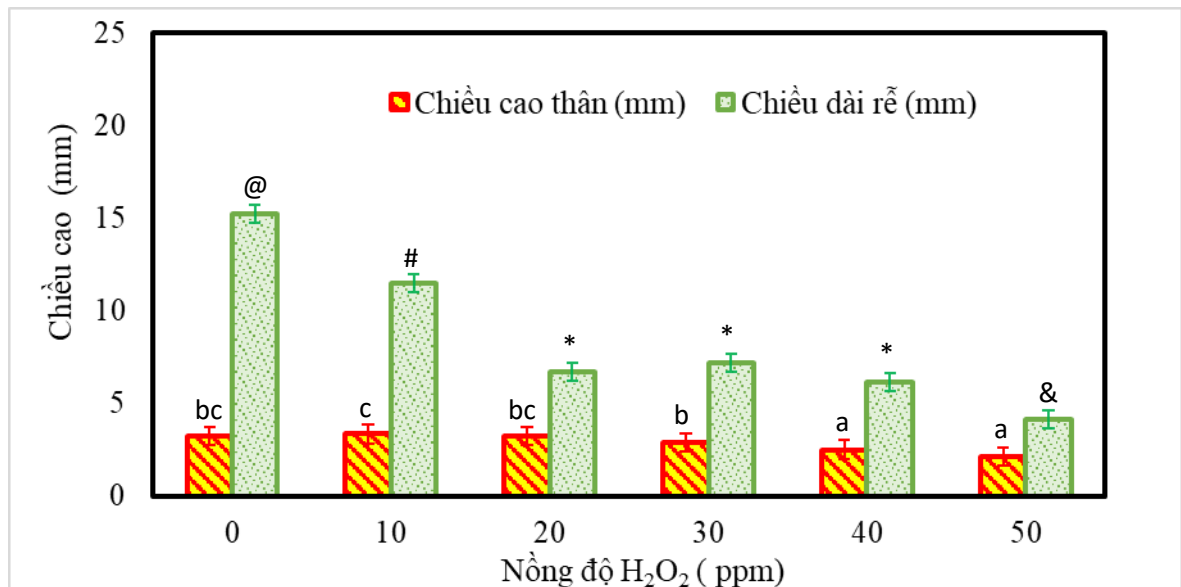
Hình 3.17. Ảnh chụp khả năng nảy mầm của mẫu 10 ppm H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sau 5 ngày

Kết quả cũng cho thấy xu hướng giảm dần của tỷ lệ nảy mầm hạt được ghi nhận khi tăng hàm lượng H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> lớn hơn 10 ppm. Điều này một lần nữa khẳng định vai trò của H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> có những ảnh hưởng tích cực đến thực vật. Thật vậy, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> có khả năng oxi hóa mạnh khiến nó có thể tương tác với hầu hết các phân tử sinh học (bao gồm acid nucleic, protein và lipid), do đó dẫn đến stress oxy hóa, gây tổn thương tế bào thực vật. Ở hàm lượng cao, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tác động tiêu cực đến thực vật dẫn đến căng thẳng sinh học, trong khi ở lượng vừa phải, vai trò tích cực của nó đã được nghiên cứu với kết quả tương tự của E.G. Barba và cộng sự [63] đối với sự nảy mầm và phát triển sớm của hạt đậu. Ngoài ra, ở hàm lượng phù hợp, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> cũng có tác động tốt đến giá trị dinh dưỡng của trái theo nghiên cứu của nhóm S.Z. Ismael [109].

### 3.4.1.2. Quá trình sinh trưởng giai đoạn sớm

- Chiều cao thân và chiều dài rễ

Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của hàm lượng  $H_2O_2$  cho sự sinh trưởng đã được khảo sát trên cây xà lách xoăn. Hình 3.18 biểu diễn chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 5 ngày ở các hàm lượng  $H_2O_2$  khác nhau.



Hình 3.18. Biểu đồ biểu diễn giá trị chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 5 ngày ở các hàm lượng  $H_2O_2$  khác nhau

Các kết quả từ hình 3.18 và hình 3.19 cho thấy dưới tác động của  $H_2O_2$ , chiều cao thân có sự thay đổi so với mẫu đối chứng, chỉ 10 ppm  $H_2O_2$  đã giúp cho chiều cao thân tăng nhẹ, 3%. Tuy vậy với hàm lượng lớn hơn 10 ppm, chiều cao thân có xu hướng giảm dần. Đặc biệt ở hàm lượng  $H_2O_2$  thay đổi từ 30 ppm đến 50 ppm thì chiều cao thân giảm từ 8.1% đến 29.1% tương ứng. Đối với chiều dài rễ, mẫu đối chứng cho thấy giá trị cao hơn so với các mẫu khác. Tiếp đó, hàm lượng  $H_2O_2$  ở 10 ppm cho chiều dài rễ tốt nhất trong số các mẫu thí nghiệm còn lại.

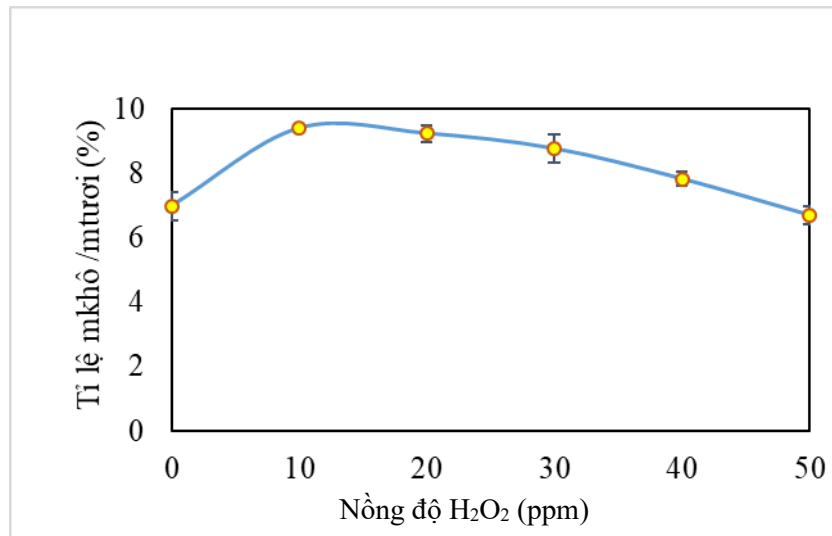
Từ các nhận định trên cho thấy chiều dài rễ có xu hướng giảm khi tăng hàm lượng  $H_2O_2$  trong các mẫu thí nghiệm. Điều này phù hợp với các nhận định ở các nghiên cứu tương tự: Ở hàm lượng cao,  $H_2O_2$  tác động tiêu cực đến thực vật dẫn đến căng thẳng sinh học đối với tế bào thực vật, nhưng với lượng vừa phải, vai trò của  $H_2O_2$  khá có lợi [60,100].



Hình 3.19. Ảnh chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 5 ngày ở các hàm lượng H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> khác nhau

- Tỷ lệ trọng lượng khô và trọng lượng tươi

Trọng lượng khô/ tươi đại diện cho lượng sinh khối được cây xanh tạo ra. Ảnh hưởng của hàm lượng H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> cho tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi đã được khảo sát trên cây xà lách xoăn. Hình 3.20 biểu diễn tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi của các mẫu xử lý H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ở các hàm lượng khác nhau.



Hình 3.20. Biểu đồ biểu diễn tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi của các mẫu xử lý H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ở các hàm lượng khác nhau

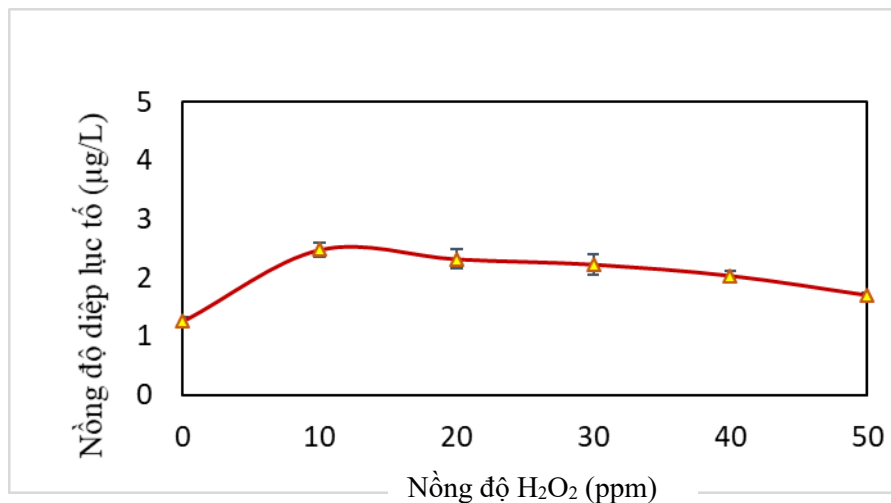
Kết quả nghiên cứu tỷ lệ trọng lượng phần trên mặt đất và rễ của xà lách xoăn cho thấy khi sử dụng H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hàm lượng từ 10 đến 40 ppm đều cho kết quả cao hơn so với đối chứng, đặc biệt ở mẫu H10 cho kết quả tốt nhất, cao hơn 34,6%. Tuy nhiên, với lượng H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sử dụng trên 10 ppm, nhìn chung tỷ lệ này đều thấp hơn so với mẫu H10. Ở hàm lượng 50 ppm, tỷ lệ này giảm khoảng 4% so với mẫu đối chứng.



Như vậy,  $H_2O_2$  có thể tham gia vào quá trình tăng trọng lượng thông qua quá trình thực vật hóa mô. Việc sử dụng  $H_2O_2$  ngoại sinh cũng có thể đã giúp hệ thống rễ khỏe hơn từ đó tăng sự phát triển của cây con, cây con dễ hấp thụ dinh dưỡng và do đó làm tăng sinh khối bên cạnh khả năng thúc đẩy hoạt động của các enzyme. Thật vậy, các nghiên cứu của nhóm Ł. Wojtyła [108], S.Z. Ismail [109], và D. Li, [110] cũng cho thấy việc bổ sung  $H_2O_2$  giúp hệ thống rễ khỏe hơn, tăng sự phát triển của cây con và tăng khả năng chịu mặn. Trong quá trình xâm nhập,  $H_2O_2$  sẽ theo các hoạt động hô hấp của ty thể, thông qua các hoạt động của con đường oxy hóa  $\beta$  và thông qua các enzyme như NADPH oxidase, peroxidase ngoại bào và oxalat oxidase. Mức độ  $H_2O_2$  cũng được kiểm soát chính xác thông qua cơ chế chống oxy hóa.  $H_2O_2$  thúc đẩy hoạt động của các enzyme trong quá trình chuyển hóa phenylpropanoid tạo ra sự tích tụ lignin và điều hòa hoạt động enzyme (DNase, RNase, caspase 3-like), góp phần vào việc tăng tốc sự hóa lỏng [63,108, 110].

- Hàm lượng diệp lục

Để hiểu thêm tác động của các hàm lượng  $H_2O_2$  ngoại sinh đối với quá trình phát triển giai đoạn đầu của xà lách xoăn, hàm lượng diệp lục của các mẫu cũng được khảo sát.



Hình 3.21. Biểu đồ thị biểu diễn hàm lượng diệp lục của các mẫu xử lý  $H_2O_2$  ở các hàm lượng khác nhau

Các kết quả từ hình 3.21 cho thấy hàm lượng diệp lục dưới tác động của các mẫu xử lý  $H_2O_2$  ở các hàm lượng khác nhau có sự thay đổi so với đối chứng: Hàm lượng diệp lục tăng lên 200% khi có sự gia tăng hàm lượng của  $H_2O_2$ , tuy vậy hàm

lượng  $H_2O_2$  càng tăng thì xu hướng giảm hàm lượng diệp lục diễn ra. Điều này cho thấy rằng  $H_2O_2$  mặc dù là một chất oxy hóa mạnh tác nhân gây tổn thương tế bào và làm hỏng quá trình quang hợp ở hàm lượng cao, nhưng ở hàm lượng thấp, nó hoạt động như một phân tử tín hiệu. Nhận định này cũng được củng cố bởi các nghiên cứu của nhóm A. Wahid [111], R. Aroca [112], R. Desikan [113]. Hơn nữa, S. Neill và cộng sự [114] cũng quan sát thấy rằng  $H_2O_2$  là một thành phần thiết yếu, tín hiệu trung gian đóng vai trò không gây ra bởi abscisic acid thông qua việc kích hoạt các kênh thấm canxi trong màng sinh chất. Như vậy, sau quá trình nảy mầm hạt,  $H_2O_2$  tiếp tục tác động lên cây con với biểu hiện như một tín hiệu sinh học, tổng hợp các chất dự trữ tồn tại trong hạt nhờ việc oxy hóa các protein dự trữ, giúp cây tiếp tục phát triển nhanh chóng. Việc oxy hóa giúp báo hiệu và kích hoạt quá trình phát triển, sinh tổng hợp GA và/ hoặc ức chế tín hiệu ABA giúp cây con phát triển tốt hơn đối chứng [60, 115].

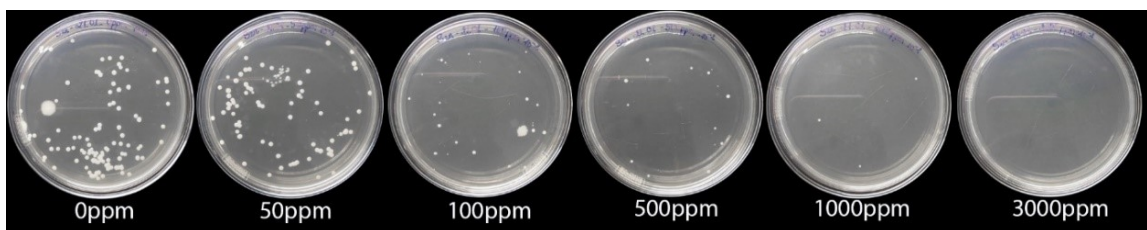
#### 3.4.1.3. Khả năng kháng khuẩn và nấm

Bên cạnh đánh giá vai trò của  $H_2O_2$  với cây trồng, nghiên cứu này cũng đề cập đến tác động của  $H_2O_2$  cho việc kháng nấm và khuẩn.

Hình 3.22 và hình 3.23 trình bày khả năng diệt khuẩn *Xanthomonas* spp. ở  $10^6$  và kháng nấm *Fusarium* spp. với các hàm lượng  $H_2O_2$  tăng dần từ 0 đến 3.000 ppm.

Các kết quả quan sát từ hình 3.21 cho thấy dường như ở ngưỡng hàm lượng trên 50 ppm thì  $H_2O_2$  bắt đầu thể hiện khả năng diệt khuẩn của chúng. Tuy nhiên để diệt được hoàn toàn vi khuẩn thì hàm lượng cần thiết phải trên 1.000 ppm.

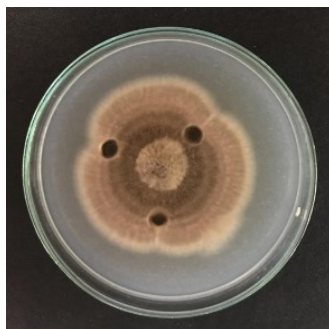
Hình 3.22 cho thấy ở cùng hàm lượng thì khả năng diệt nấm khó hơn so với diệt khuẩn.



Hình 3.22. Kết quả kháng *Xanthomonas* spp. ở  $10^6$  của  $H_2O_2$  ở các hàm lượng 0 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 500 ppm, 1.000 ppm và 3.000 ppm sau 24 giờ

Việc dùng  $H_2O_2$  có hiệu quả trong quá trình diệt khuẩn và diệt nấm, nhưng ở hàm lượng cao lại không phù hợp với quá trình phát triển của cây trồng. Mặc dù không hiệu quả cho bổ sung giai đoạn nảy mầm và sinh trưởng, nhưng kết quả này cho thấy chúng ta có thể sử dụng  $H_2O_2$  làm chất khử trùng, xử lý nhanh hạt trước khi bắt đầu thực hiện quá trình nảy mầm.

Các kết quả này cũng tương đồng với kết quả của các nghiên cứu khác khi cho rằng  $H_2O_2$  chỉ diệt được nấm và khuẩn ở hàm lượng cao, thường từ hàm lượng cao (> 35%) [116- 118].



Hình 3.23. Kết quả kháng nấm *Fusarium* spp. của  $H_2O_2$  ở các hàm lượng 50 ppm, 200 ppm, 1.000 ppm, sau 24 giờ

### 3.4.2. Ảnh hưởng của các khoáng đa lượng N, P, K đến quá trình nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn đầu

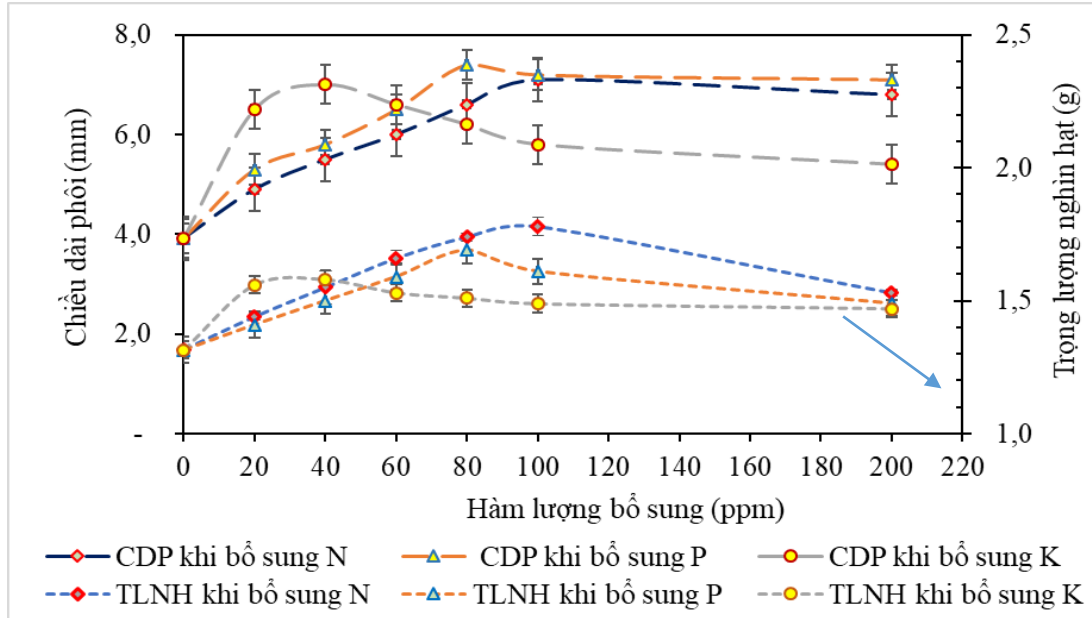
#### 3.4.2.1. Quá trình nảy mầm

Để tìm hiểu vai trò của khoáng đa lượng cho sinh trưởng giai đoạn đầu của hạt, ảnh hưởng của hàm lượng N, P, K cũng được tiến hành nghiên cứu.

Hình 3.24 đến hình 3.27 biểu diễn trọng lượng nghìn hạt và chiều dài phôi và ảnh chụp phôi khi bổ sung các khoáng chất N, P, K ở các hàm lượng khác nhau.

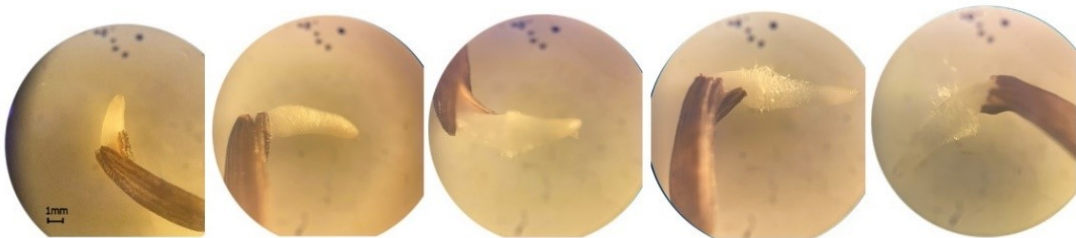
Từ hình 3.24 cho thấy xu hướng trọng lượng nghìn hạt được đều có sự tăng dần khi tăng hàm lượng bổ sung. Cụ thể: Tăng từ 9,49% đến 35,34% (ở 100 ppm) cho N, 7,22% đến 28,52% (ở 80 ppm) cho P, và 11,79% đến 20,15% (ở 20 ppm) cho K. Nhìn chung, xu hướng tăng này không tuyến tính. Ở việc bổ sung hàm lượng cao, xu hướng giảm dần ở trọng lượng nghìn hạt cho cả 3 trường hợp. Các kết quả cũng cho thấy, so với bổ sung K, P ở cùng hàm lượng, việc bổ sung N chỉ ra hiệu quả cao nhất (chênh lệch 7%, 15%).

Đối với chỉ tiêu chiều dài phôi, xu hướng tương tự như đối với chỉ tiêu trọng lượng nghìn hạt. Cụ thể: Tăng từ 25% đến 81,12% (ở 100 ppm) cho N; 35,20% đến 88,78% (ở 80 ppm) cho P; và 37,76% đến 78,57% (ở 20 ppm) cho K. So sánh trong 3 trường hợp ở cùng điều kiện, xu hướng phát triển chiều dài phôi như sau  $P > N > K$ .

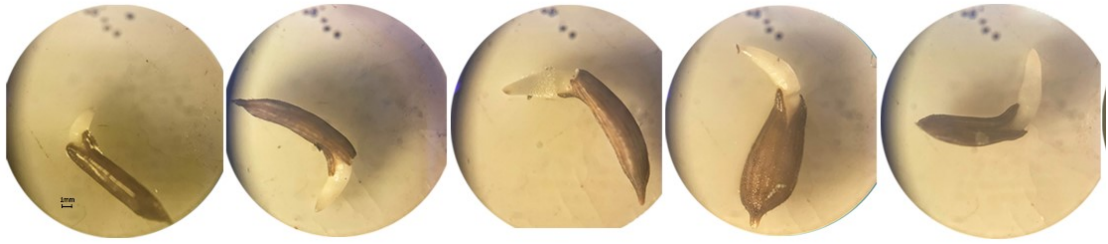


Hình 3.24. Biểu đồ biểu diễn trọng lượng nghìn hạt và chiều dài phôi khi bổ sung các khoáng chất ở hàm lượng khác nhau

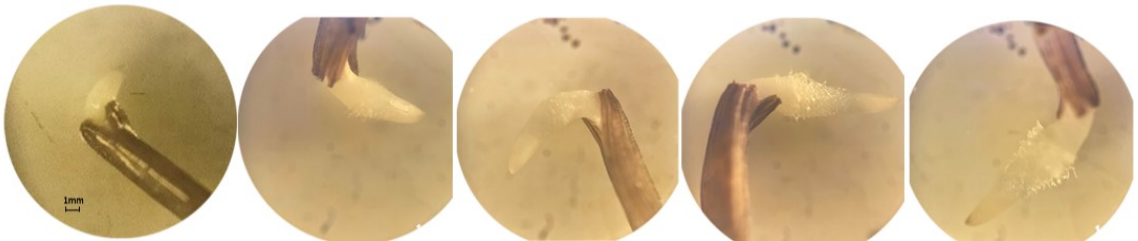
Trên ảnh chụp từ hình 3.25 đến 3.27 đều cho thấy sự gia tăng khác biệt về chiều dài và hình thái phôi khi được bổ sung hàm lượng càng cao các khoáng chất sau 24 giờ, đã có sự xuất hiện các lông tơ nhỏ ngay từ hàm lượng 10 ppm được thêm vào. Sự hấp thụ dung dịch khiến hạt phình to ra đã diễn ra ở ngưỡng 10 ppm đến 200 ppm ngay từ sau 2 giờ ở các khoáng chất được thêm vào. Sau 24 giờ, tiến hành đo sự phát triển của phôi được khảo sát



Hình 3.25. Ảnh chiều dài phôi khi bổ sung hàm lượng N từ 0 ppm đến 200 ppm sau 24 giờ. (Thứ tự từ trái qua: 0 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 200 ppm)

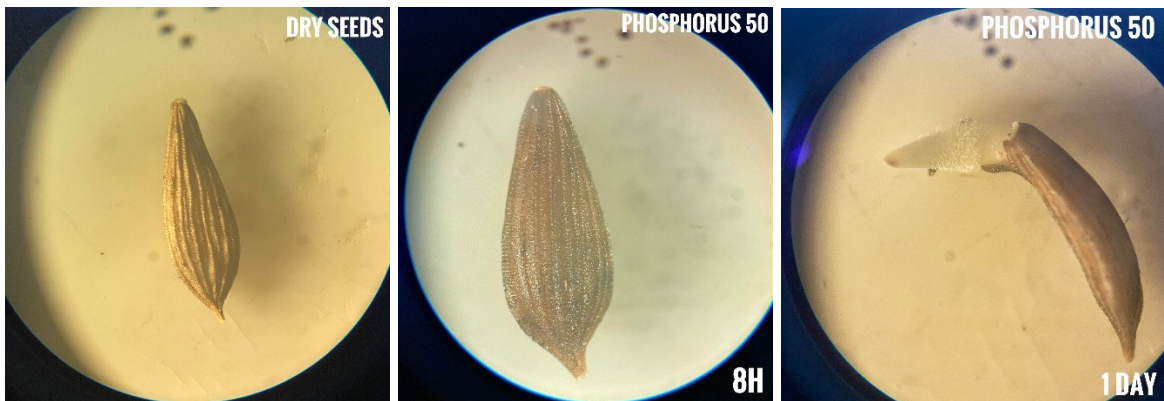


Hình 3.26. Ảnh chiều dài phôi khi bổ sung hàm lượng P từ 0 ppm đến 200 ppm sau 24 giờ. (Thứ tự từ trái qua: 0 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 200 ppm)



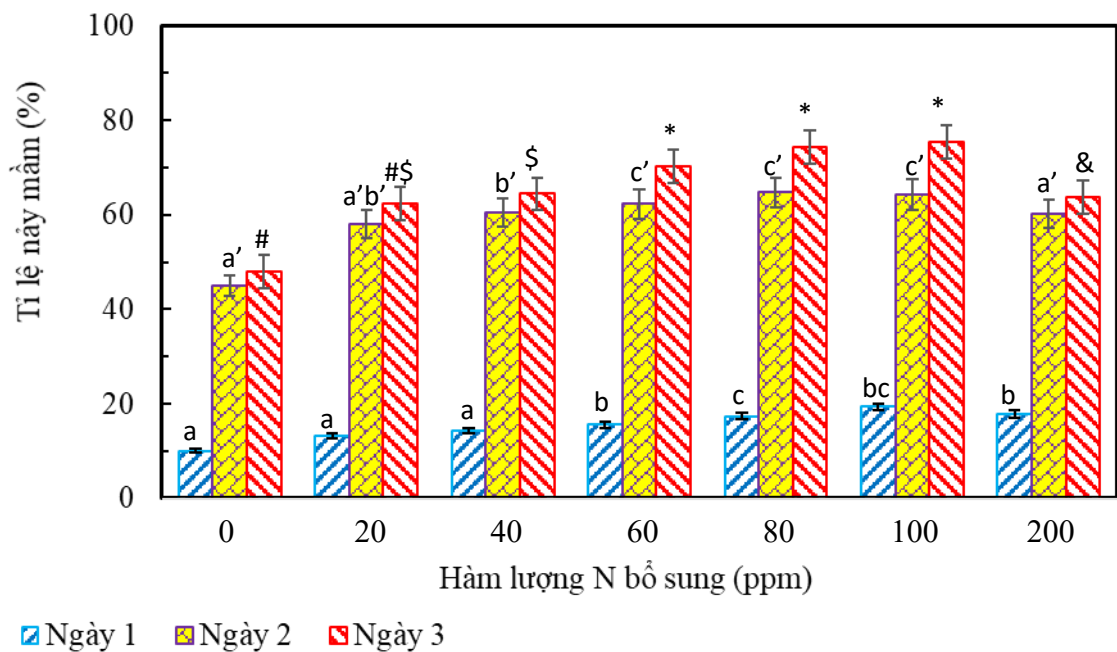
Hình 3.27. Ảnh chiều dài phôi khi bổ sung hàm lượng K từ 0 ppm đến 200 ppm sau 24 giờ. (Thứ tự từ trái qua: 0 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 200 ppm)

Hình ảnh bên dưới cho thấy sự hấp thụ dung dịch và phát triển phôi sau 24 giờ khảo sát ở khoáng chất P với hàm lượng 50 ppm.



Hình 3.28. Sự biến đổi của hạt ở 80 ppm P thêm vào ở 0 giờ, 8 giờ và 24 giờ khảo sát

Để đánh giá rõ hơn vai trò của việc thêm các khoáng chất N, P, K với quá trình nảy mầm hạt, thông số tỷ lệ nảy mầm hạt cũng được tiến hành khảo sát với kết quả thể hiện bên dưới.



Hình 3.29. Biểu đồ biểu diễn tỷ lệ nảy mầm hạt trong các mẫu bổ sung N ở các hàm lượng

Kết quả cho thấy việc bổ sung N có thể làm tăng khả năng nảy mầm của hạt, từ ngày 1 đến ngày 3, đặc biệt trong ngày đầu tiên mẫu N200 cho thấy khả năng nảy mầm tăng 75% so với đối chứng, đến ngày thứ 3 thì khả năng nảy mầm vượt trội của hạt được ghi nhận là tăng 59,8%. Xu hướng gia tăng tỷ lệ nảy mầm xuất hiện từ mẫu N10 đến N200.

Từ các kết quả khảo sát về chiều dài phôi, trọng lượng nghìn hạt, tỷ lệ nảy mầm hạt có thể thấy rằng mặc dù đã có lượng N dự trữ trong hạt (4,25 g/ 100 g hạt) nhưng việc bổ sung N trong giai đoạn nảy mầm vẫn có tác dụng đáng kể, giúp hỗ trợ quá trình tích trữ dinh dưỡng, chuẩn bị cho giai đoạn phát triển tiếp theo của cây. Lượng N cung cấp thêm trong giai đoạn đầu có tác động rất lớn đến sự hình thành phôi, tăng trọng lượng hạt. Kết quả này cũng tương đồng với một số nhận định từ các nghiên cứu của nhóm M. Stitt [119] và C. Diaz [120], Thật vậy lượng khoáng chất N cung cấp cho cây không đủ, có thể cản trở sự sinh trưởng và phát triển. N cũng có thể cải thiện sự phát triển của rễ, tăng trọng lượng, diện tích, đường kính, tổng số và chiều dài rễ chính, trọng lượng khô và sau đó tăng khả năng sự hấp thụ và cân bằng chất dinh dưỡng. Ngoài ra, N có thể đã phá vỡ trạng thái ngủ của hạt, ảnh hưởng đến tác động của các enzyme. Một số nghiên cứu trước đây cũng cho thấy rằng vai trò phá vỡ trạng thái ngủ của hạt thông qua việc làm giảm hàm

lượng axit abscisic của N, cụ thể là do protein liên kết với một yếu tố khởi động của gen mã hóa enzyme dị hóa axit abscisic. Ngoài ra, hàm lượng N tối ưu cũng thúc đẩy sự nảy mầm bằng cách hạ thấp tỷ lệ axit abscisic/ gibberellin [121, 122].

Tỷ lệ nảy mầm qua các ngày gia tăng không đáng kể nếu bổ sung N ở lượng cao hơn 200 ppm. Thật vậy, việc bổ sung N ở ngưỡng cao hơn 200 ppm có thể được cân nhắc vì dẫn đến việc tích trữ dinh dưỡng quá nhiều, gây hiện tượng phú dưỡng hóa, ảnh hưởng đến quá trình nảy mầm hạt. Các nghiên cứu của các nhóm Q. Tian [123], L.J. Van den Berg [124], W. Roem [125] cũng chỉ ra việc bổ sung nhiều N làm giảm đáng kể độ pH của đất, làm giảm sự nảy mầm và năng suất cây trồng. Ngoài ra, trong nghiên cứu của B.J. King và cộng sự [126] cũng cho rằng lạm dụng N quá mức gây ra sự phú dưỡng hóa. Như vậy việc xác định lượng N bổ sung phù hợp rất quan trọng đối với thực vật trong quá trình nảy mầm và sinh trưởng.

Trong trường hợp bổ sung P: Xu hướng gia tăng dần tỷ lệ nảy mầm đều xuất hiện tương tự ở các mẫu như đối với N. Hình 3.23, 3.25, 3.28 cho thấy rằng: Mặc dù lượng P dự trữ trong hạt là 0,97 g/100 g hạt (phụ lục kết quả phân tích) nhưng việc bổ sung P đến ngưỡng phù hợp cho giai đoạn nảy mầm sẽ có tác động đáng kể, giúp hỗ trợ quá trình tích trữ dinh dưỡng, chuẩn bị cho giai đoạn phát triển tiếp theo của cây. Vì vậy, việc cung cấp đầy đủ P là điều cần thiết ngay từ đầu. Điều này cũng tương tự với kết luận của nhóm P. Yugandhar [127] và P. J. White [128] khi cho rằng khoáng chất P tồn tại trong hạt có vai trò quan trọng đối với sức sống của cây con, hàm lượng diệp lục và quá trình quang hợp của cây non, việc hạn chế cung cấp P vào đầu giai đoạn phát triển có thể dẫn đến sự hạn chế sinh trưởng của cây trồng, từ đó cây sẽ không phục hồi, ngay cả khi P được cung cấp tăng lên đến mức thích hợp trong giai đoạn sau. Ngoài ra, các nghiên cứu khác từ T. Rose và cộng sự [129, 130] cho thấy rằng việc bổ sung P vào đất sẽ cải thiện sức sống của cây con. Điều đó cho thấy, bên cạnh P nội sinh, P cung cấp thêm từ ngoài sẽ cải thiện sức sống của cây con. Trong trường hợp hàm lượng P từ hạt hoặc từ môi trường thấp sẽ dẫn đến sự suy giảm sức sống và chất lượng hạt giống [131, 132].

Trường hợp bổ sung K: Kết quả cũng cho thấy xu hướng gia tăng dần tỷ lệ nảy mầm như N P. Hình 3.23, 3.27, 3.28 cho thấy rằng mặc dù lượng K vẫn tồn tại trong hạt (0,983 g/ 100g) nhưng việc hấp thụ thêm lượng K ngoại sinh ở xà lách

xoắn vẫn diễn ra, có ảnh hưởng đến quá trình nảy mầm. Nghiên cứu trước đó của nhóm M. Farooq [133], H. Marschner [134], N. K. Fageria [136] cũng cho thấy nhận định tương tự, sử dụng K ngoại sinh ở các giai đoạn sinh trưởng khác nhau làm giảm sự hấp thu các chất dinh dưỡng có hại, tăng cường khả năng chống chịu với stress phi sinh học và thúc đẩy năng suất và các đặc điểm liên quan đến năng suất. Thật vậy, khoáng chất K đóng vai trò điều tiết quan trọng trong nhiều quá trình sinh lý thực vật như: Nảy mầm hạt, điều hòa khí khổng, cân bằng cation-anion, tổng hợp protein, quang hợp, truyền năng lượng, điều hòa thẩm thấu, hoạt hóa enzyme, cân bằng dinh dưỡng và chống stress. Do đó, có thể kết luận rằng K có vai trò điều tiết đầy hứa hẹn đối với sự nảy mầm của hạt.

Nhìn chung từ các kết quả thu được khi bổ sung khoáng đa lượng cho thấy: Hàm lượng N, P, K thấp trong hạt có thể gây bất lợi cho sự nảy mầm. Do đó, việc xác định được hàm lượng phù hợp của các khoáng chất khi bổ sung sẽ giúp tăng hiệu quả nảy mầm tốt nhất.

#### *3.4.2.2. Quá trình sinh trưởng giai đoạn đầu*

- Chiều cao thân và rễ

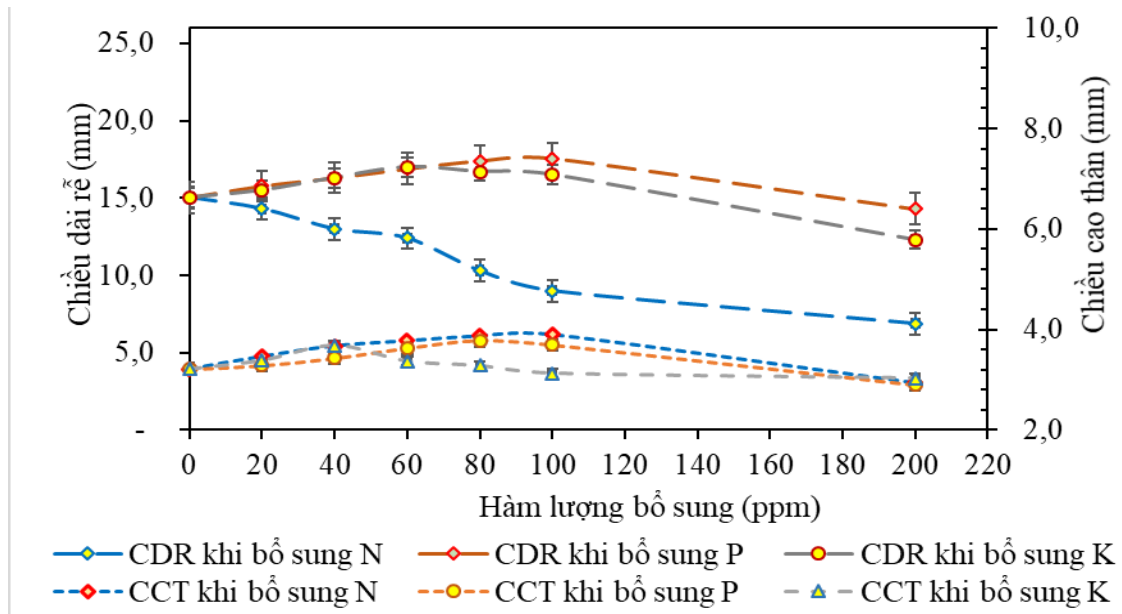
Trong thí nghiệm bổ sung N, P, K, chiều cao thân - chiều dài rễ là 1 trong những thông số quan trọng để đánh giá sự phát triển của cây sau quá trình nảy mầm.

Kết quả nghiên cứu được chỉ ra ở hình 3.30 đến 3.33.

Đối với khoáng chất N: Kết quả chỉ ra rằng hàm lượng N thêm vào và chiều dài rễ có mối quan hệ nghịch đảo: Mẫu có hàm lượng N thấp nhất (đối chứng) có chiều dài rễ dài nhất (15,03 mm), trong khi mẫu có hàm lượng N cao nhất 200 ppm lại có chiều dài rễ ngắn nhất (6,88 mm). Xu hướng giảm dần chiều dài rễ xảy ra liên tục khi càng bổ sung N. Tuy nhiên, quan sát hình ảnh thực tế từ hình 3.30 cho thấy, dù chiều dài rễ ở các mẫu có bổ sung N vào có ngắn hơn mẫu đối chứng nhưng rễ có vẻ cứng cáp, các rễ phụ và lông tơ phát triển khá nhiều chỉ ra sự khác biệt về hình thái. Về chiều cao thân: Khi bổ sung N, chiều cao thân có xu hướng tăng nhẹ từ 3,21 mm đến 3,90 mm (N100); và sau đó giảm còn 2,93 mm (N200). Điều này cho thấy khi N được bổ sung ở hàm lượng thích hợp có thể kích thích sự phát triển của thực vật, ngược lại sẽ có thể ức chế sự phát triển của rễ và thân. Quan sát tương



tự trong nghiên cứu của X. Sun và cộng sự [136] cho thấy sự thích nghi quan trọng của hệ thống rễ: Rễ sẽ mau chóng kéo dài để tăng sự hấp thu N khi nguồn cung cấp N thấp. Nhận định trên cũng phù hợp với nghiên cứu của Li và cộng sự [137] cho thấy bổ sung N vừa đủ sẽ làm tăng sự phát triển của các cơ quan trên mặt đất như thân, lá, ngược lại làm giảm sự phát triển của rễ chính.



Hình 3.30. Biểu đồ biểu diễn giá trị chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 7 ngày ở các hàm lượng N



Hình 3.31. Ảnh chụp biểu diễn giá trị chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 5 ngày ở các hàm lượng N

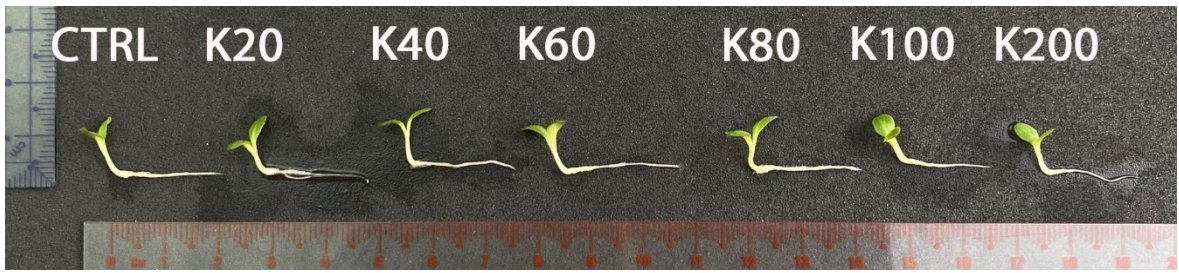
Đối với khoáng chất P: Khác với ảnh hưởng của N, chiều cao thân và chiều dài rễ xà lách xoắn lại có xu hướng tăng dần từ 0 ppm đến 100 ppm, tăng 17,76% đối với chiều cao thân ở mẫu P80 và 29,74% đối với chiều dài rễ ở mẫu P100. Khi tăng hàm lượng P lên 200 ppm, xu hướng giảm nhanh chiều cao thân và chiều dài rễ đã xuất hiện. Quan sát bằng hình ảnh (hình 3.31) cũng cho thấy kết quả tương tự. Các kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu trước của các nhóm tác giả M. Razaq [138], J. Hong [139] khi cho rằng P là chất cần thiết cho sự sinh trưởng của cây

trông và đặc biệt ảnh hưởng đáng kể đến chiều cao thân, đường kính cổ rễ, hàm lượng diệp lục và hình thái rễ. Như vậy, sau khi nảy mầm, cây con đẩy mạnh trao đổi chất và phân chia tế bào để phát triển và hình thành các cơ quan, cấu trúc nên nhu cầu P tăng cao. Việc cung cấp P tối ưu sẽ kích thích sự phát triển của cây. Thật vậy, nghiên cứu của H. Lambers và Plaxton [140] đã chứng minh rằng P là tác nhân chính của các quá trình sinh học, trao đổi chất như: Truyền năng lượng, tổng hợp màng và nucleotide, quang hợp và truyền tín hiệu...



Hình 3.32. Ảnh chụp biểu diễn giá trị chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 5 ngày ở các hàm lượng P

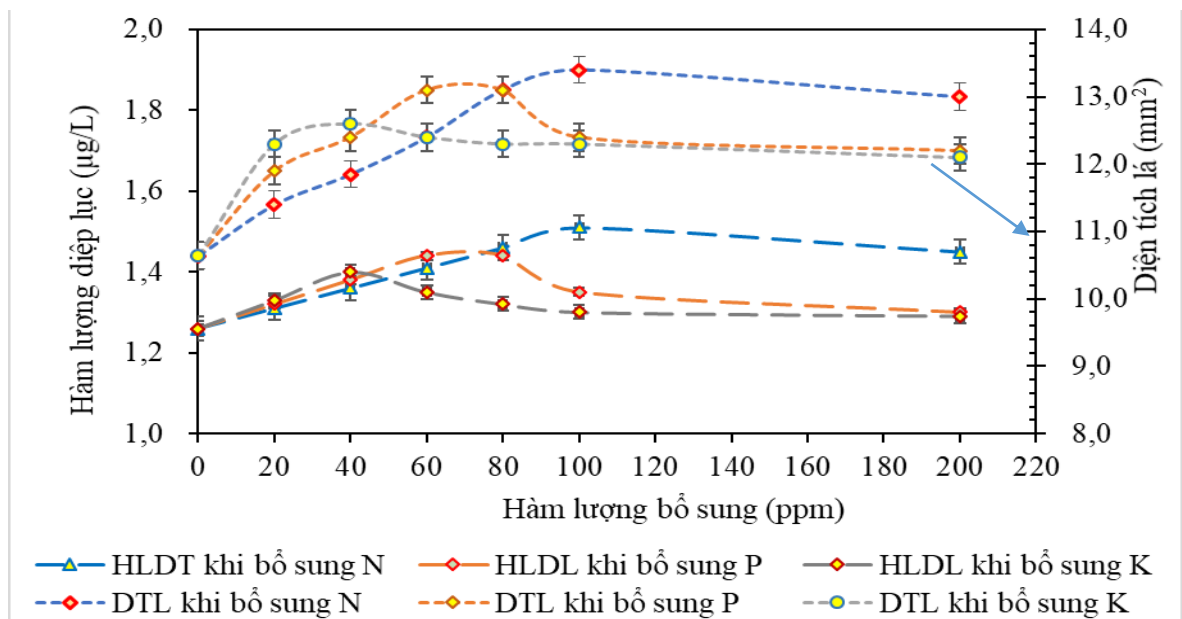
Đối với khoáng chất K: Các kết quả cho thấy việc bổ sung K có thể làm tăng chiều cao thân và chiều dài rễ của cây so với mẫu đối chứng. Xu hướng gia tăng dần chiều cao thân diễn ra đến mẫu K40 và chiều dài rễ cũng tăng đến mẫu K60. Điều này cho thấy rằng việc bổ sung K trong giai đoạn đầu có tác dụng hỗ trợ quá trình tích trữ dinh dưỡng, chuẩn bị cho giai đoạn phát triển tiếp theo của cây. Theo quan sát, những mẫu có bổ sung K thì rễ và thân cứng cáp hơn, xuất hiện nhiều lông tơ hơn so với mẫu đối chứng. Tuy vậy, với lượng K bổ sung nhiều hơn lại cho xu hướng ngược lại: Chiều cao thân và chiều dài rễ không phát triển nhiều như mong đợi. Trong số các chất dinh dưỡng cần thiết cho cây trồng, K là thành phần khoáng không thể thiếu, đóng vai trò quan trọng trong quá trình sinh trưởng và phát triển của cây [141]. Duy trì mức K và tỷ lệ của nó với các chất dinh dưỡng thiết yếu khác trong môi trường là rất quan trọng đối với chức năng bình thường cũng như sự phát triển của cây [142]. Hơn nữa, thừa hoặc thiếu K trong đất trồng sẽ cản trở sự phát triển chung của cây [143] Vì vậy, quản lý K có lợi cho việc cải thiện sự phát triển của cây trồng.



Hình 3.33. Ảnh chụp biểu diễn giá trị chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 5 ngày ở các hàm lượng K

- Diện tích lá và hàm lượng diệp lục

Ngoài thông số chiều cao thân – chiều dài rễ, diện tích lá, hàm lượng diệp lục là những thông số đánh giá sự phát triển của xà lách xoăn. Hình 3.34 đến hình 3.37 thể hiện biểu đồ biểu diễn diện tích lá, hàm lượng diệp lục và các hình ảnh quan sát trực tiếp.

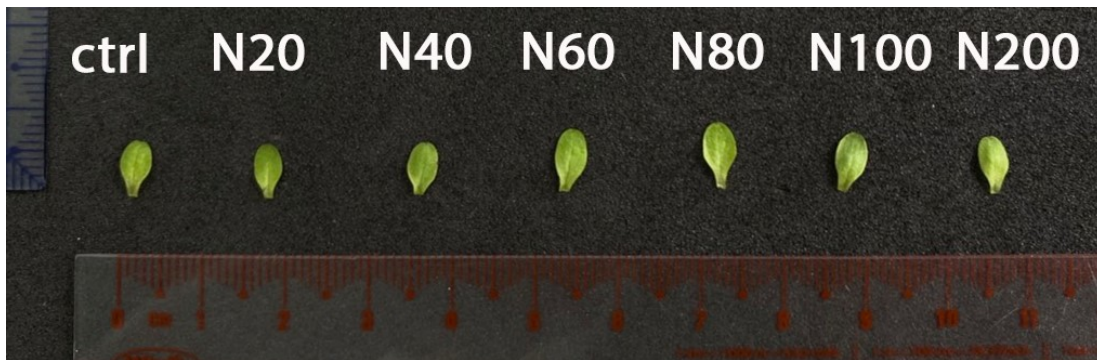


Hình 3.34. Biểu đồ biểu diễn giá trị diện tích lá và hàm lượng diệp lục khi bổ sung các khoáng chất ở hàm lượng khác nhau

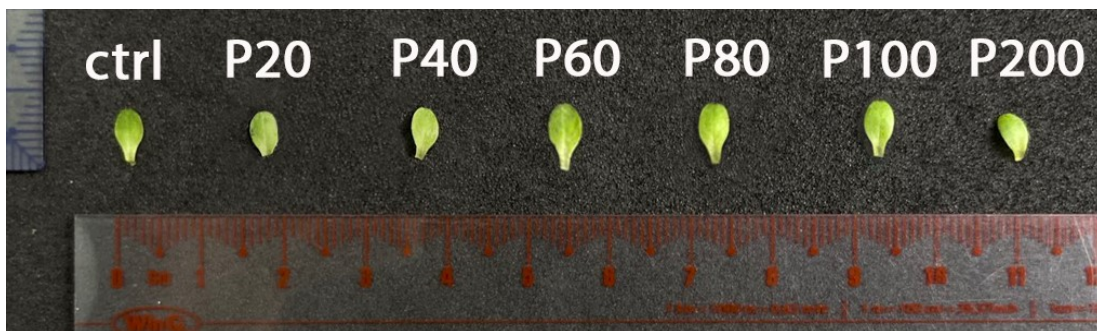
Từ kết quả hình 3.34 cho thấy có sự tương đồng giữa hàm lượng diệp lục và diện tích lá. Khi tăng hàm lượng trên các khoáng chất khác nhau đều chỉ ra xu hướng tăng đến ngưỡng phù hợp, sau đó các chỉ số đều giảm tương ứng, kể cả các chỉ số của sự nảy mầm như phần trên đã trình bày. Điều này cho thấy ở mỗi khoáng chất chỉ ra một giá trị hàm lượng phù hợp cho sự phát triển giai đoạn đầu.

Khi so sánh giữa 3 khoáng chất cho thấy: Để đạt được sự phát triển tốt nhất, cần bổ sung N hơn là bổ sung K, P. Điều này cho thấy: N trong hạt khảo sát không đủ để phát triển một cách tối ưu. Ngược lại, lượng P, K yêu cầu không nhiều. Có thể nhận định, việc bổ sung thêm N, kết hợp với lượng N, P, K sẵn có trong hạt (4,25 g/100 g hạt, 0,97 g/100 g hạt, 0,98 g/100 g hạt theo thứ tự tương ứng, phụ lục kiểm tra hàm lượng các chất có trong hạt) đã tạo ra sự chênh lệch đáng kể trên. Điều này cho thấy sự cần thiết phải điều chỉnh các chỉ số về hàm lượng chất cho phù hợp để việc nảy mầm, sinh trưởng phát triển của cây.

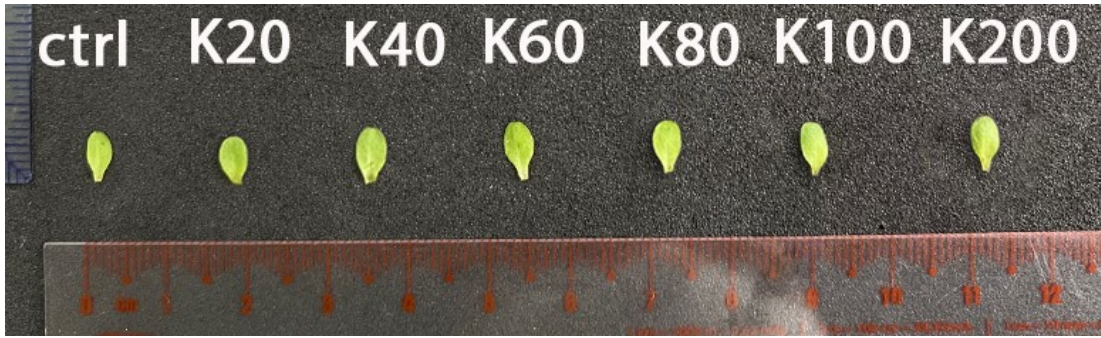
Nhận định trên một lần nữa được khẳng định thông qua quan sát hình chụp của các mẫu về diện tích là theo hình 3.34 đến 3.36 cho hàm lượng N, P, K bổ sung từ 0 đến 200 ppm.



Hình 3.35. Ảnh chụp biểu diễn sự phát triển lá của xà lách xoăn sau 7 ngày ở các hàm lượng N



Hình 3.36. Ảnh chụp biểu diễn sự phát triển lá của xà lách xoăn sau 7 ngày ở các hàm lượng P

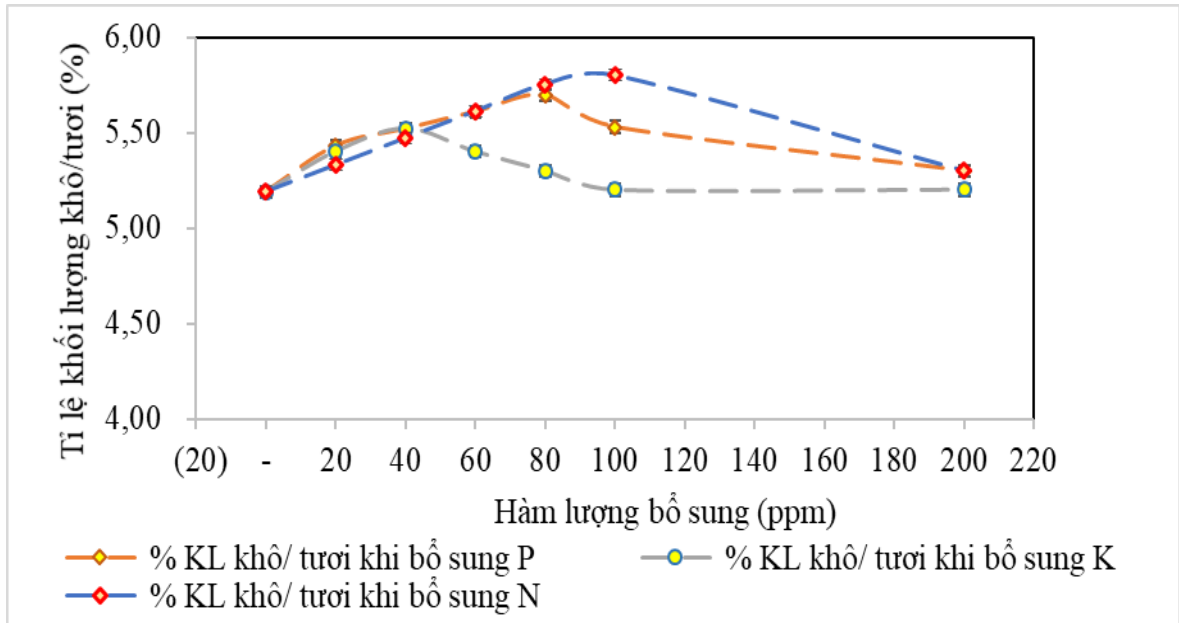


Hình 3.37. Ảnh chụp biểu diễn sự phát triển lá của xà lách xoăn sau 7 ngày ở các hàm lượng K

- Tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi

Hàm lượng chất khô thông qua việc tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi của lá được tiếp tục khảo sát, cũng là một thông số quan trọng trong việc đánh giá hiệu quả sinh trưởng của cây.

Hình 3.38 thể hiện sự tác động các hàm lượng N, P, K bổ sung đối với tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi của xà lách xoăn. Đối với tất cả các điều kiện được khảo sát, các giá trị đo được cho các mẫu đều cao. Sự tăng hay giảm tỷ lệ này của xà lách xoăn tương quan chặt chẽ với diện tích lá. Chất khô của lá bao gồm lipid, protein, carbohydrate, khoáng chất, vitamin và các chất dinh dưỡng thực vật, ngoại trừ nước. Do đó, mối quan hệ giữa tỉ lệ trọng lượng khô/ tươi của lá cho thấy có bao nhiêu chất hữu cơ (cacbon) được tích lũy trong cây. Điều này một lần nữa khẳng định tầm quan trọng của việc xác định ngưỡng hàm lượng phù hợp và vai trò của việc bổ sung N, P, K trong giai đoạn phát triển giai đoạn đầu của cây con.



Hình 3.38. Biểu đồ biểu diễn tỉ lệ trọng lượng khô/ tươi của các mẫu xử lý N ở các hàm lượng khác nhau

#### 3.4.2.3. Nhận xét chung

Từ các kết quả nghiên cứu ở trên cho thấy vai trò quan trọng của các tác chất  $H_2O_2$ , N, P, K đối với quá trình nảy mầm cũng như sinh trưởng hạt trong giai đoạn đầu:

Với trường hợp  $H_2O_2$ : Bên cạnh khả năng cải thiện quá trình nảy mầm sinh trưởng của cây ở hàm lượng thấp,  $H_2O_2$  còn có thể được sử dụng trong diệt khuẩn nấm, rửa hạt trước khi nảy mầm, hay bảo quản và lưu trữ hạt...

Với trường hợp N, P, K: Việc bổ sung các tác chất này trong giai đoạn đầu là cần thiết. Trên từng loại hạt, việc xác định ngưỡng tối ưu để bổ sung khoáng chất đa lượng N, P, K để cải thiện quá trình nảy mầm và sinh trưởng là vấn đề cần quan tâm. Thật vậy, thông thường, thành phần, hàm lượng các chất có trong hạt bị ảnh hưởng rất nhiều bởi các yếu tố địa lý. Do đó việc nghiên cứu bổ sung các khoáng chất để đạt kết quả cao nhất trong quá trình nảy mầm và sinh trưởng là khá quan trọng trong nghiên cứu cải thiện năng suất cây trồng.

### **3.5. Khảo sát ảnh hưởng của PAW và PAW kết hợp khoáng đa lượng N, P, K đối với quá trình nảy mầm và sinh trưởng**

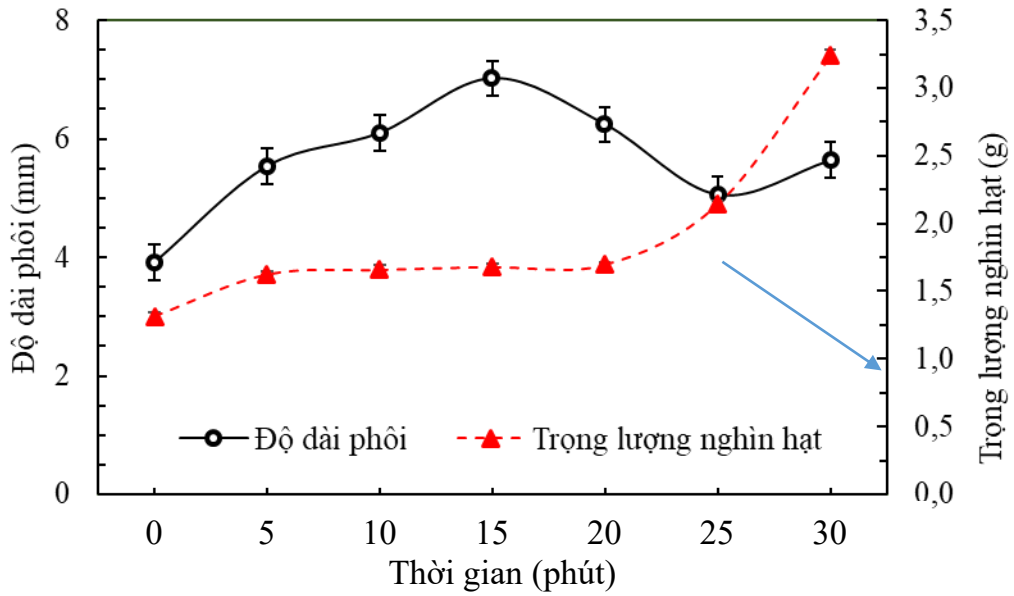
#### **3.5.1. Quá trình nảy mầm**

##### *3.5.1.1. Ảnh hưởng của PAW và PAW kết hợp khoáng đa lượng N, P, K cho chiều dài phôi và trọng lượng hạt*

Để tìm hiểu vai trò tác động của PAW và PAW kết hợp với các khoáng chất cho quá trình nảy mầm, các nghiên cứu về chiều dài phôi và trọng lượng nghìn hạt được tiến hành.

Hình 3.39 biểu diễn các chỉ số nảy mầm của hạt đối với các điều kiện PAW khác nhau. Kết quả từ hình này cho thấy: Đối với tất cả các trường hợp, trọng lượng hạt ngâm với PAW luôn cao hơn so với mẫu Ctrl (tăng từ 24% đến 147%). Mặc dù trọng lượng của hạt ngâm với ở PAW-5 đến PAW- 20 tăng chậm từ 1,62 g đến 1,79 g, nhưng ở các điều kiện PAW-25 và PAW-30 có sự gia tăng đáng kể, đạt 2,15 g và 3,24 g, tương ứng. Như vậy, sự hiện diện của ROS hoặc hạt được cung cấp nước có chứa ROS tạo các hợp chất nâng cao tỷ lệ nảy mầm bằng cách phá vỡ sự ngủ đông của hạt. Sự hiện diện của H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> trong PAW có thể kích hoạt các phân tử tín hiệu như đã trình bày trong nội dung thử nghiệm với H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [23- 25]. Ngoài ra khi toàn bộ hạt được tiếp xúc với plasma, chỉ có bề mặt bên ngoài của hạt bị thủy phân bởi plasma lạnh do vậy có thể thấy rằng khả năng thấm ướt của hạt đã được cải thiện bằng PAW, giúp tăng khả năng hút nước của hạt. Điều này cũng đề cập tương tự như trong các nghiên cứu trước đó [144, 145].

Chiều dài của phôi biểu thị gián tiếp tốc độ phát triển của hạt. Như trong hình 3.39, mẫu đối chứng có chiều dài phôi ngắn nhất so với tất cả các mẫu ở các điều kiện khác. Điều này chứng tỏ PAW có tác động đáng kể đến sự nảy mầm và phát triển của hạt. Chiều dài phôi của hạt tương ứng tăng từ 3,92 mm đến 7,02 mm đối với mẫu Ctrl đến PAW-20 và sau đó giảm xuống 6,24 mm và 5,06 mm tương ứng đối với PAW-25 và PAW-30. Việc giảm chiều dài phôi có thể là do sự hấp thụ nhiều nước dẫn đến sự hình thành lại các cầu nối polysaccharide giữa các sợi cellulose trong thành tế bào một cách không thích hợp, dẫn đến tế bào bị tổn thương, phá vỡ và chết [194].



Hình 3.39. Biểu đồ biểu diễn ảnh hưởng của PAW đến các chỉ số nảy mầm của hạt (chiều dài phôi được đo sau 24h và trọng lượng nghìn hạt sau 2 giờ ngâm) ở các mẫu được xử lý từ 0 đến 30 phút.

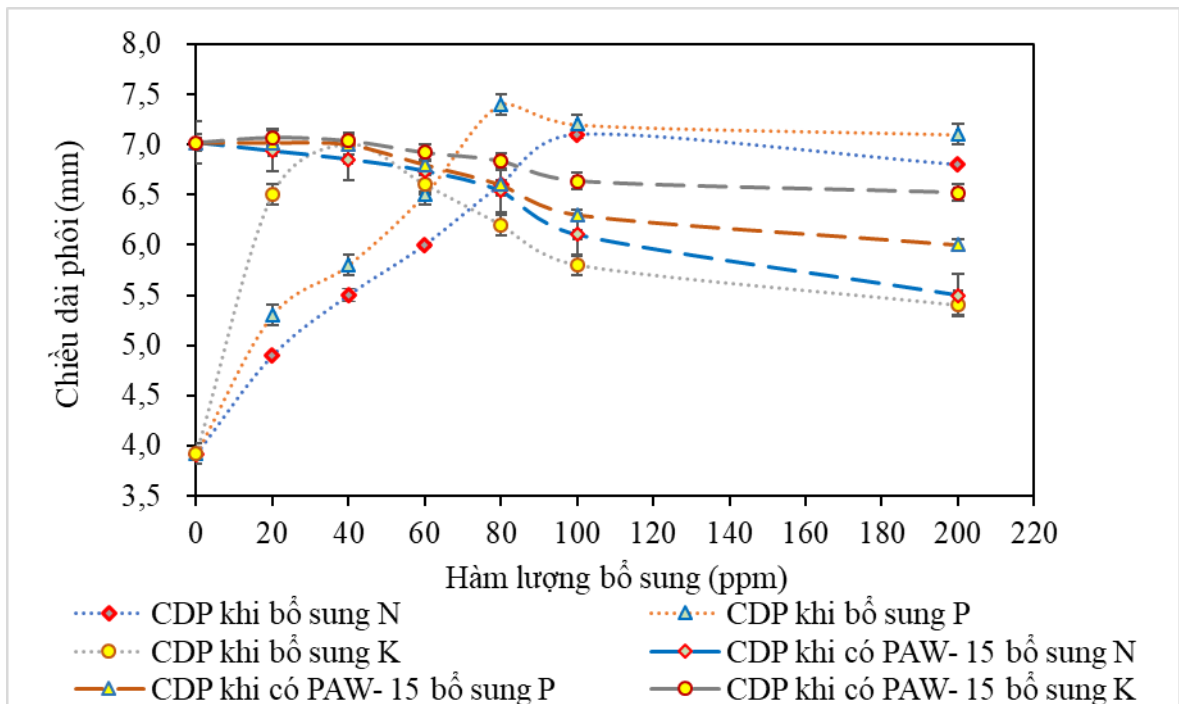
Với các kết quả nghiên cứu và đánh giá, cho thấy việc sử dụng PAW ở 15 phút có các thông số phù hợp tốt nhất so với các trường hợp còn lại. Do đó trong các nghiên cứu tiếp theo, PAW 15 được lựa chọn kết hợp với các khoáng chất ở hàm lượng phù hợp.

Hình 3.40 và hình 3.41 biểu diễn chiều dài phôi và trọng lượng nghìn hạt đối với các điều kiện PAW-15 kết hợp bổ sung hàm lượng N, P, K tăng dần từ 0 đến 200 ppm. Trong 2 biểu đồ này, giá trị của PAW-15 được dùng làm đối chứng khi xây dựng các đường biểu diễn của PAW15 kết hợp N, P, K bổ sung; ngoài ra các giá trị của việc chỉ bổ sung N, P, K đã có ở phần trên cũng được thể hiện nhằm làm rõ hơn vai trò của PAW.

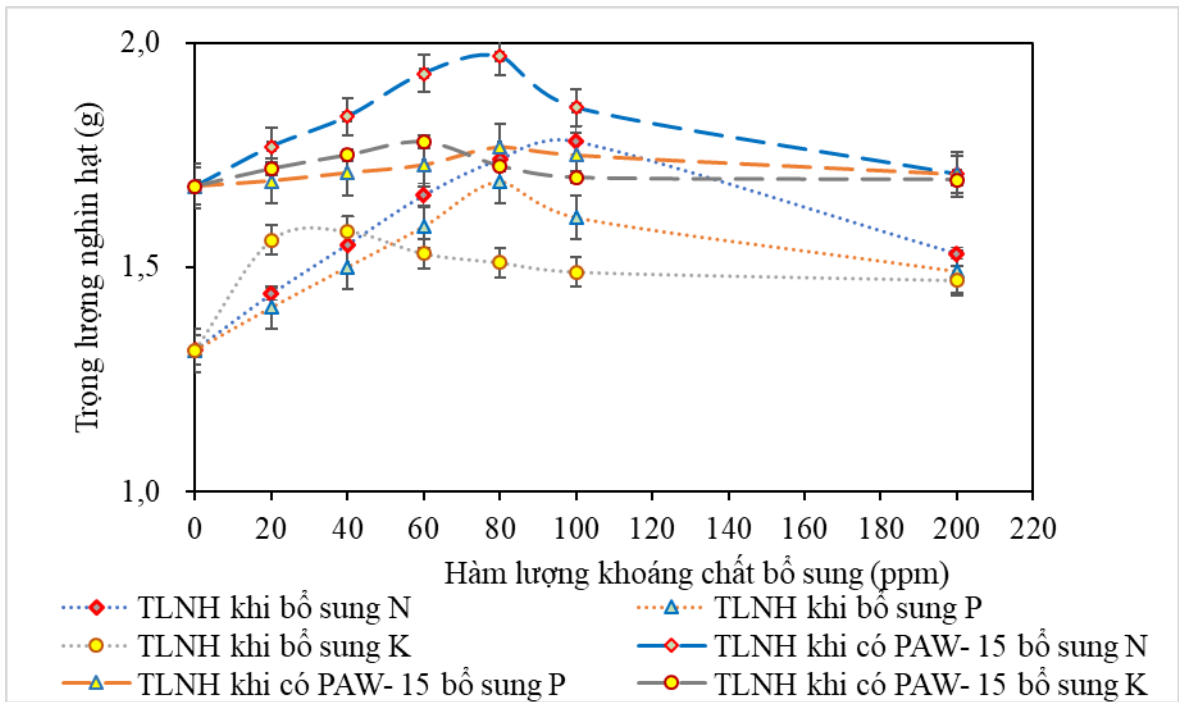
Quan sát hình 3.40 biểu đồ biểu diễn chiều dài phôi, nhận thấy, khi bổ sung ở hàm lượng thấp các khoáng đa lượng vào mẫu PAW-15, chiều dài phôi so mẫu PAW-15 có xu hướng giảm, ở mẫu chỉ có PAW-15, chiều dài phôi gần như đạt ngưỡng tối đa. Điều này khẳng định thêm vai trò của PAW cho sự hình thành và phát triển của phôi. Quan sát biểu đồ biểu diễn trọng lượng nghìn hạt của các mẫu, hình 3.41, cho thấy khi gia tăng hàm lượng khoáng chất vào mẫu PAW-15, trọng lượng nghìn hạt có xu hướng tiếp tục gia tăng so với đối chứng PAW15. Sự gia tăng



này vẫn cao hơn nhiều so với mẫu đối chứng là nước cất. Đối với mẫu N100, trọng lượng nghìn hạt tăng tối đa 35,34% so với đối chứng, trong khi với sự có mặt của PAW-15, mẫu N80 có sự gia tăng là 49,22%. Tương tự cho P và K: Ở mẫu P80 và K40, giá trị trọng lượng nghìn hạt đạt tối đa 28,52% và 20,15%; ở mẫu bổ sung có PAW15, giá trị này đạt tối đa 49,22% và 34,8% ở hàm lượng tương tự. Điều này có thể được giải thích bởi sự tương tác hỗ trợ qua lại giữa N, P, K trong việc tăng khả năng hấp thụ dung dịch, tạo điều kiện tốt cho quá trình nảy mầm và sinh trưởng cây hiệu quả hơn, đã được nêu ở kết quả nghiên cứu sự tương tác của đơn chất N, P, K với hạt. Như vậy, PAW 15 có khả năng kích hoạt sức hút nước tối đa của hạt. Tuy vậy khi gia tăng hàm lượng khoáng chất trong PAW-15, sẽ làm thay đổi tính chất của dung dịch, do vậy khả năng hút nước bị giảm, dẫn đến trọng lượng nghìn hạt bị giảm đi. Các nghiên cứu trước đó cũng chỉ ra sự tương đồng với nhận định này [147].



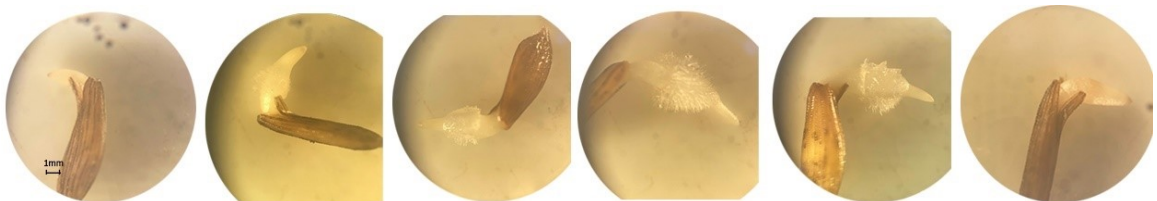
Hình 3.40. Biểu đồ biểu diễn chiều dài phôi đối với các điều kiện không và có PAW-15 kết hợp bổ sung hàm lượng N, P, K tăng dần từ 0 đến 200 ppm



Hình 3.41. Biểu đồ biểu diễn trọng lượng nghìn hạt đối với các điều kiện không và có PAW-15 kết hợp bổ sung hàm lượng N, P, K tăng dần từ 0 đến 200 ppm

Để làm rõ hơn tác động của PAW-15 khi có bổ sung các khoáng chất với mẫu chỉ có khoáng chất, nghiên cứu này cũng quan sát hình thái của phôi dưới kính hiển vi soi nổi.

Hình 3.42 thể hiện ảnh chụp chiều dài phôi được xử lý bằng PAW-15 kết hợp N từ 0 ppm đến 200 ppm sau 24 giờ. Khi so sánh với hình chụp 3.24 ở trên, ở hình 3.42 cho thấy chiều dài và hình thái của các mẫu có sử dụng PAW-15 cũng có sự khác biệt tích cực như bên dưới: Các lông tơ phụ xuất hiện nhiều hơn, sự phát triển về bề ngang của phôi cũng tốt hơn so với các mẫu phôi không có tác động của PAW-15.



Hình 3.42. Chiều dài phôi của hạt được xử lý bằng PAW-15 kết hợp N từ 0 ppm đến 200 ppm sau 24 giờ. (Thứ tự từ trái qua: 0 ppm, đối chứng PAW15, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 200 ppm)

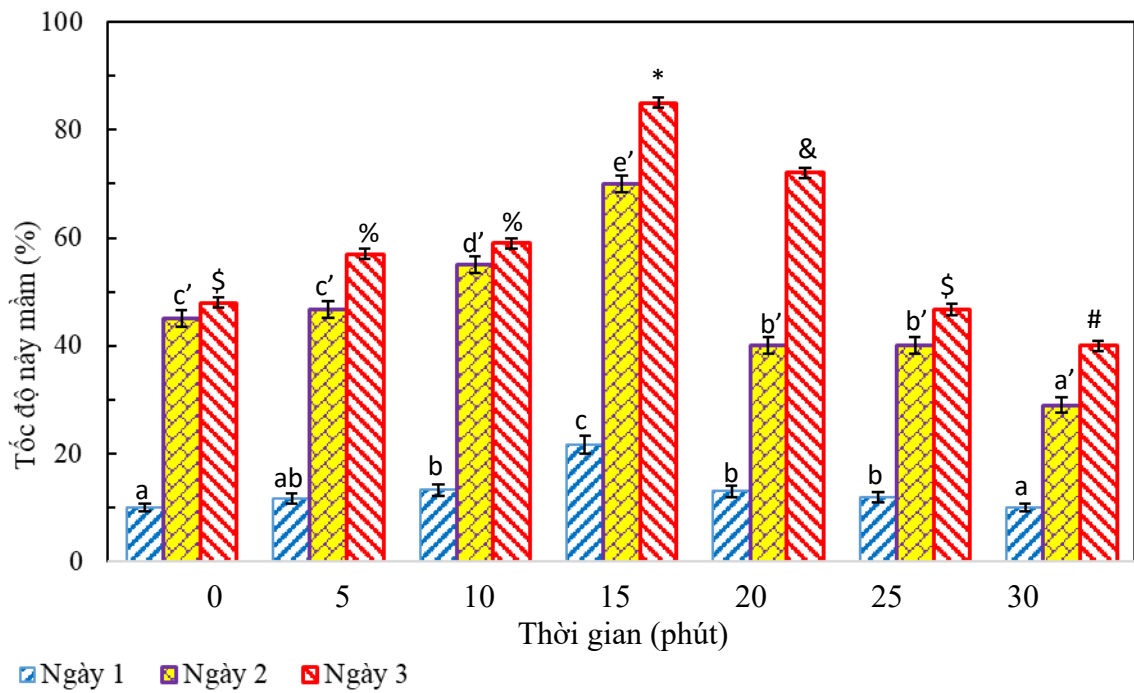
Như vậy dưới tác động của PAW-15, sự hấp thu N, P, K bổ sung vào càng tăng khi gia tăng hàm lượng của chúng, trở thành điều kiện để phôi phát triển tốt hơn, tạo tiền đề cho sự phát triển sau đó của hạt.

### *3.5.1.2. Ảnh hưởng của PAW và PAW kết hợp khoáng đa lượng N, P, K cho tốc độ nảy mầm*

Các tác động khác nhau của PAW đối với sự phát triển của thực vật bị chi phối bởi nhiều yếu tố kết hợp khác nhau như loài thực vật, kiểu plasma, thời gian xử lý, chất lượng nước, điều kiện thí nghiệm [148]. Vì vậy, mối quan hệ giữa các đặc tính lý hóa của PAW và những thay đổi bên trong của hạt cần được làm rõ để chứng minh tác động tích cực của PAW đối với sự nảy mầm của hạt. Để biết thêm chi tiết về ảnh hưởng của PAW đến sự nảy mầm của hạt, tỷ lệ nảy mầm của hạt được theo dõi trong 3 ngày đầu sau khi gieo.

Hình 3.43 đến hình 3.45 cho thấy tỷ lệ nảy mầm của hạt xà lách xoắn với các mẫu PAW từ 0 đến 30 phút hoạt hóa và sự kết hợp của các khoáng chất (N) kết hợp PAW- 15 ở các hàm lượng khác nhau.

Đối với thời gian hoạt hóa plasma trong nước, kết quả từ hình 3.42 cho thấy, ngoại trừ các mẫu PAW-25 và PAW-30, việc sử dụng PAW làm tăng khả năng nảy mầm của hạt và tỷ lệ nảy mầm khác nhau giữa các ngày. Sau một ngày gieo, tỷ lệ nảy mầm của hạt đạt khoảng 22% khi sử dụng PAW-15, trong khi tỷ lệ này không đổi khoảng 10% đối với các điều kiện khác. Vào ngày thứ hai, tỷ lệ nảy mầm tăng mạnh (từ 3 đến 4 lần so với giá trị đạt được ngày đầu tiên). Cuối cùng sau 3 ngày tỷ lệ nảy mầm tăng đều đối với mẫu CTRL đến PAW-15 để đạt giá trị cao nhất khoảng 85% đối với mẫu PAW-15. Đặc biệt, xu hướng này không được quan sát thấy trong PAW ở thời gian hoạt hóa dài (25 và 30 phút), tỷ lệ nảy mầm trong thời điểm này không thay đổi trong hai ngày đầu tiên hoặc giảm tương ứng từ 48% xuống 40% trong ngày thứ ba.



Hình 3.43. Biểu đồ biểu diễn tỷ lệ nảy mầm khi được bổ sung PAW trong 3 ngày đầu ở các khoảng thời gian khác nhau



Hình 3.44. Sự nảy mầm và phát triển thành cây con của hạt Xà lách xoăn khi được bổ sung PAW-15

Các xu hướng về tốc độ phát triển của hạt giữa các mẫu được bổ sung nước cất và PAW tại các thời điểm khác nhau (từ 5 đến 30 phút) trong 3 ngày đầu tiên tương tự như chiều dài phôi được thể hiện trong hình 3.43. Điều này có thể được giải thích do hiệu ứng về thành phần hóa học, tỷ lệ và hàm lượng RONS trong các mẫu PAW ở các thời điểm xử lý khác nhau. Đáng chú ý, độ pH của các dung dịch PAW rất quan trọng đối với sự nảy mầm của hạt và quá trình sinh trưởng của cây con vì nó có thể ảnh hưởng đến hoạt động của các enzyme như Puaç và cộng sự đã báo cáo trong các nghiên cứu của họ liên quan đến hạt *Paulownia tomentosa* [148]. Môi trường acid cao đối với hạt sẽ kích hoạt enzyme pectinase cắt cầu nối

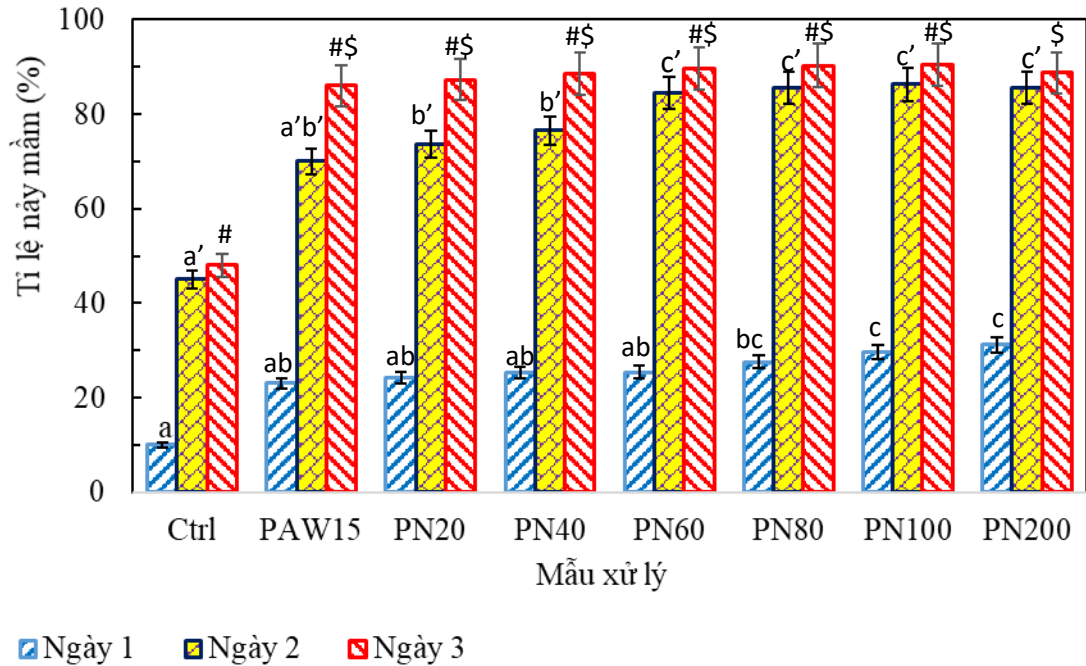
polysaccharide giữa các sợi cellulose trong thành tế bào. Hậu quả là làm giãn bề mặt tế bào và tăng khả năng hút nước. Trong điều kiện thí nghiệm, sự thay đổi đáng kể của pH đã được quan sát thấy giữa các mẫu Ctrl (6,9) và các mẫu PAW (từ 5,65 đến 4,65) và các tác động có hại có thể xảy ra đối với hạt giống. Các giá trị pH này nằm ngoài phạm vi pH chấp nhận được cho sự phát triển của xà lách xoắn (6,5 - 5,8) như trong nghiên cứu của nhóm Holmes đã nêu [149].

Nhiều báo cáo đã cho thấy  $\text{NO}_3^-$  được coi là nguồn N chính cho hầu hết các loài thực vật. Trong thực vật, nitrat reductase (NR) xúc tác quá trình chuyển đổi  $\text{NO}_3^-$  thành  $\text{NO}_2^-$ , tạo ra các chất chuyển hóa chứa N như acid amin và NO [150]. Ở các loài thực vật khác nhau,  $\text{NO}_3^-$  đã được chứng minh khả năng tăng cường giải phóng hạt giống ở trạng thái ngủ đông và nảy mầm sau đó [151,152]. Ngoài ra, nitrate, một phân tử tín hiệu trong thực vật được tạo ra trong PAW có một vai trò quan trọng đối với sự nảy mầm của hạt [152]. Như thể hiện trong hình 3.8, hàm lượng  $\text{NO}_3^-$  là từ 20 đến 60 mg/L đối với PAW-5 đến PAW-30, tương ứng. Những kết quả này phù hợp với những kết quả được công bố bởi Sera và cộng sự [152] cho sự nảy mầm của lúa mì và yến mạch, và của nhóm Padureanu và cộng sự [153] đối với sự nảy mầm của xà lách xoắn, đặc biệt đối với các mẫu PAW-15 chứa khoảng 40 mg/L  $\text{NO}_3^-$ . Trong các nghiên cứu này, sự nảy mầm tối ưu đã được quan sát đối với hàm lượng nitrate trong nước tương ứng là khoảng 40 mg/L và 54 mg/L.

Hydrogen peroxide là một hợp chất gây ảnh hưởng đến sự nảy mầm của hạt và sự phát triển của cây. Ở hàm lượng cao,  $\text{H}_2\text{O}_2$  tác động tiêu cực đến thực vật dẫn đến căng thẳng sinh học [155], trong khi ở lượng vừa phải, vai trò của nó khá có lợi như đã được chứng minh bởi E.G. Barba và cộng sự đối với sự nảy mầm của hạt và sự phát triển sớm của cây con hạt đậu và của nhóm Ismael để sinh trưởng và phát triển cũng như chất lượng trái cây [63, 109].

Hình 3.45 cho thấy tỷ lệ nảy mầm của hạt xà lách xoắn được bổ sung bằng nước cất (Ctrl), và các mẫu PAW15 có lượng N từ 0 đến 200 ppm. Các kết quả cho thấy xu hướng các mẫu PAW-15 có hàm lượng N tăng dần đều có thể làm tăng khả năng nảy mầm của hạt, từ ngày 1 đến ngày 3, đặc biệt trong ngày đầu tiên các mẫu đều cho thấy khả năng nảy mầm tăng cao hơn nhiều so với đối chứng, đến ngày thứ 3 thì khả năng nảy mầm vượt trội của hạt được ghi nhận là tăng gấp đôi so với đối

chúng không sử dụng PAW. Xu hướng này khi so sánh với việc chỉ đơn thuần bổ sung lượng N từ 0 đến 200 ppm cho thấy với sự kết hợp của giá trị PAW-15 với lượng N thêm vào thì tỷ lệ nảy mầm tăng cao hơn, tương ứng. Thêm vào đó ở các mẫu PAW-15 có bổ sung N, cho thấy vào ngày thứ 3, tỷ lệ nảy mầm hạt thành công không có khác biệt khi so sánh với với mẫu PAW-15



Hình 3.45. Đồ thị biểu diễn tỷ lệ nảy mầm hạt của xà lách xoăn dưới tác động của đơn chất N kết hợp PAW ở các hàm lượng khác nhau

Từ các nhận định trên cho thấy việc dùng PAW15 (được xác định mang hiệu quả tốt nhất về thời gian xử lý) có bổ sung N trong giai đoạn nảy mầm có tác dụng bổ sung N ngoại sinh hỗ trợ quá trình tích trữ dinh dưỡng, chuẩn bị cho giai đoạn phát triển tiếp theo của cây, giúp nâng cao tỷ lệ nảy mầm gần như tối đa. (N nội tại thiếu, bổ sung đủ thì hỗ trợ quá trình nảy mầm, dư nhiều, ko phát triển) Tuy nhiên với sự không khác biệt nhiều ở mẫu PAW-15 và các mẫu PAW-15 có bổ sung N cho thấy trong quá trình nảy mầm, chưa cần thiết bổ sung N nếu đã sử dụng PAW-15 vì lượng N được cung cấp bởi quá trình hoạt hóa plasma trong nước đã đủ dùng cho hạt trong giai đoạn nảy mầm (40 mg/L NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Các kết quả tương tự cũng đã được đề cập ở phần trên trong các nghiên cứu khác [153, 154].

Khi xem xét tỷ lệ nảy mầm đối với việc bổ sung P, K với các hàm lượng khác nhau từ 0 đến 200 ppm vào PAW-15, xu hướng diễn ra tương tự như khi bổ

sung N (bảng 2, 3 phần phụ lục). Điều này một lần nữa minh chứng giá trị của PAW trong việc kích hoạt quá trình nảy mầm để đạt được giá trị cao nhất. Như đã trình bày trong phần tổng quan, quá trình nảy mầm phụ thuộc vào phytohormone (bao gồm i. hormone kích thích là auxins, GA, Cytokinine ii. hormone ABA, ethylene). Yếu tố ảnh hưởng lớn đến nảy mầm là dinh dưỡng, ảnh hưởng thông qua việc điều chỉnh quá trình trao đổi chất và con đường tín hiệu của GA và ABA. Vai trò, sự cần thiết của các khoáng chất thiết yếu N, P, K cũng được đề cập rõ đối với thực vật ở các khả năng kích hoạt enzyme, quang phân ly nước, diệp lục... đặc biệt là đối với khoáng chất N với vai trò điều tiết các quá trình sinh lý và cấu trúc tạo nên enzyme, tế bào.

Như vậy có thể nhận định, cơ chế của sự nảy mầm dưới tác động của PAW là việc hoạt hóa quá trình trao đổi chất và đặc biệt là việc huy động chất dinh dưỡng. Thêm vào đó, chính các hoạt chất tạo ra bởi PAW đã điều chỉnh mạng lưới tín hiệu và biểu hiện gen giúp cho quá trình nảy mầm hạt được kích hoạt tốt nhất.

Với các nhận định và kết quả thực nghiệm, có thể thấy, dưới cơ chế tác động của PAW, trong giai đoạn nảy mầm của xà lách xoăn, PAW đã kích hoạt khả năng nảy mầm khá tốt. Tuy nhiên, để đạt giá trị tốt nhất, cần thiết bổ sung thêm khoáng chất N, P, K ở hàm lượng vừa phải. Điều này rất có ý nghĩa trong việc kiểm soát và gia tăng tỷ lệ nảy mầm của hạt giống.

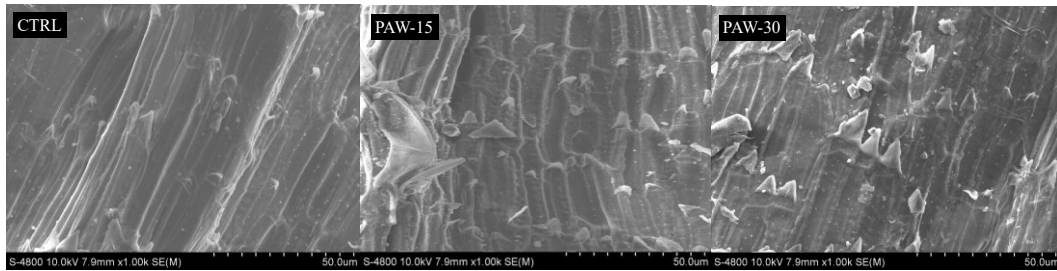
### *3.5.1.3. Ảnh hưởng của PAW đến sự thay đổi hình thái của hạt*

Để có thể quan sát rõ tác động của PAW đối với sự thay đổi về hình thái, cấu trúc bề mặt của hạt, trong nghiên cứu cũng sử dụng hình ảnh từ máy SEM.

Hình 3.46 cho thấy ảnh SEM của bề mặt hạt sau 2 giờ ngâm với nước cất (CTRL), PAW-15 và PAW-30.

Các hình ảnh cho thấy cấu trúc bề mặt của hạt thay đổi mạnh do điều kiện hoạt hóa bằng plasma trong nước. Cụ thể, ở mẫu hạt ngâm PAW, cấu trúc bề mặt của hạt bị biến dạng và phá hủy một phần, các đường rìa trên biểu bì hạt dần biến mất, xuất hiện các vết bong tróc. Quan sát này tương tự như nhóm Bafoil và cộng sự [155] nghiên cứu về sự biến đổi bề mặt hạt bằng plasma. PAW thay đổi cấu trúc

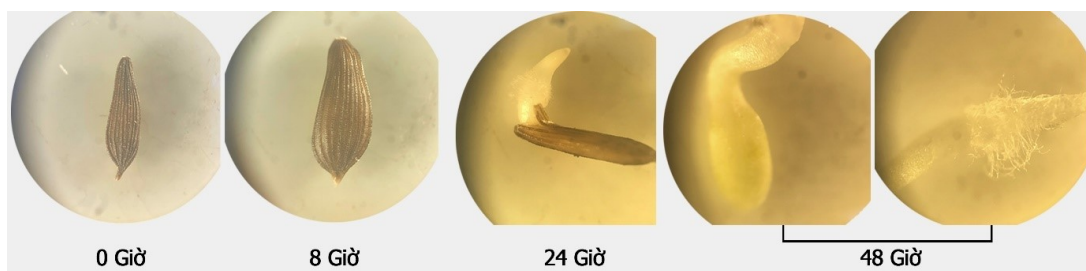
hạt thông qua tác động của RONS có thể oxy hóa chuỗi bên acid amin [156, 157]. Sau khi xử lý PAW-30, bề mặt hạt có mức độ biến đổi cao.



Hình 3.46. Hình ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của bề mặt hạt sau 2 giờ ngâm với nước cất (CTRL), PAW-15 và PAW-30

Một trong những nguyên nhân chính khiến hạt nảy mầm chậm là do vỏ hạt không thấm nước, không thấm oxy hoặc vỏ quá cứng khiến phôi không thể nảy mầm. Sự xuất hiện của các vết nứt bong ra trên bề mặt của hạt được ngâm với PAW cho phép các phân tử nước và oxy nhanh chóng thâm nhập vào hạt và sau đó giúp rút ngắn thời gian nảy mầm. Trong số các quá trình ảnh hưởng đến sự nảy mầm của hạt, sự tương tác của ROS có trong PAW (đặc biệt là  $H_2O_2$  và các loại  $OH\bullet$ ) và bề mặt hạt là một trong những quá trình có ý nghĩa nhất như được chứng minh bởi nghiên cứu từ các nhóm Lariguet [158], Weitbrecht [159], và Ogawa, Iwabuchi [64]. Những loài được tạo ra từ PAW này đã góp phần làm tăng khả năng nảy mầm của hạt bằng cách tác động lên các enzyme điều hòa mã hóa, làm nứt vỏ hạt thông qua sự phân cắt polysaccharid của thành tế bào để nối lỏng nó, và bằng cách oxy hóa các hợp chất có thể ức chế sự nảy mầm của hạt như phenol và alkaloid thường có ở vỏ hạt trưởng thành.

Ngoài ra, nghiên cứu cũng sử dụng hình ảnh từ quá trình soi nổi của hạt được ngâm bằng PAW-15 từ 0 giờ đến 48 giờ để minh chứng thêm cho sự phát triển của phôi hình thành từ hạt (hình 3.47).



Hình 3.47. Ảnh soi nổi của hạt được ngâm bằng PAW-15 từ 0 giờ đến 48 giờ



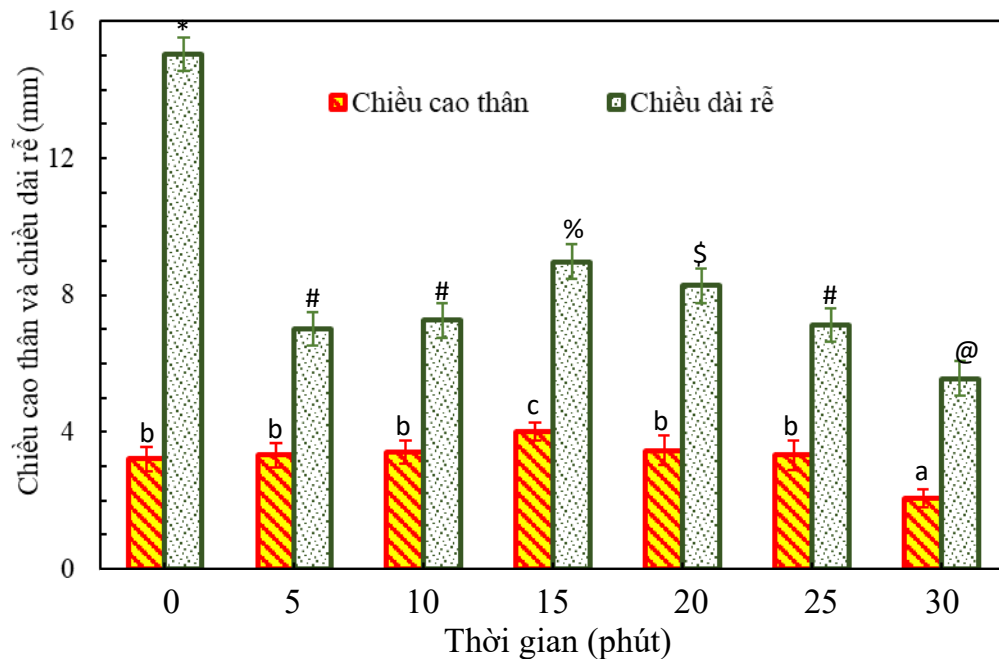
### 3.5.2. Quá trình sinh trưởng giai đoạn đầu của hạt

#### 3.5.2.1 Sự phát triển chiều cao thân - chiều dài rễ của cây

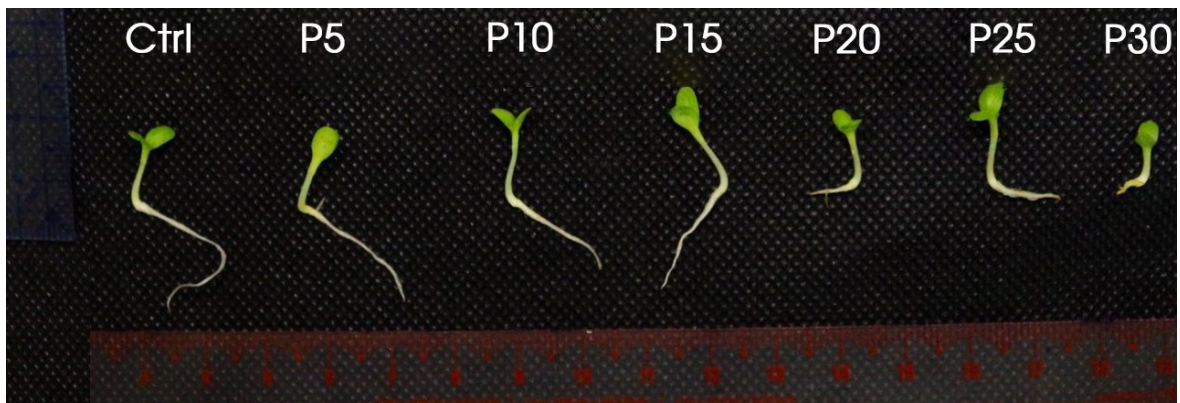
Với kết quả từ quá trình này mầm được khảo sát ở phần trên, để đánh giá vai trò, tác động của PAW và PAW có bổ sung các khoáng chất phục vụ cho việc sinh trưởng giai đoạn đầu, các nghiên cứu về chiều cao thân - chiều dài rễ được tiến hành.

Các hình 3.48 đến 3.53 thể hiện chiều cao thân và chiều dài rễ của xà lách xoăn dưới tác động PAW và PAW có bổ sung khoáng chất ở các thời gian khác nhau.

Với tác động của PAW: Hình 3.48 thể hiện ảnh hưởng của PAW ở các thời điểm xử lý khác nhau từ 0 đến 30 phút đối với chiều cao thân và chiều dài rễ của cây con xà lách xoăn vào ngày thứ 3. Khi so sánh ảnh hưởng của PAW đến chiều cao thân đo được vào ngày thứ 3 sau khi gieo, mẫu PAW-15 có chiều cao thân cao nhất tương ứng với mức tăng khoảng 25% so với mẫu đối chứng. Đối với các điều kiện xử lý khác, không có sự khác biệt đáng kể về chiều cao thân ngoại trừ đối với mẫu PAW-30, giảm 36%.



Hình 3.48. Biểu đồ biểu diễn chiều cao thân và chiều dài rễ của xà lách xoăn dưới tác động PAW ở các thời gian khác nhau



Hình 3.49. Hình ảnh cây con được thu hoạch vào ngày thứ 5 sau khi gieo dưới ảnh hưởng của PAW đối với sự phát triển của Xà lách xoăn.

Hình ảnh cây con được quan sát trong hình 3.49, hình thái của rễ không đồng nhất và một số rễ xuất hiện nhánh phụ khó kết luận về ảnh hưởng của PAW đến chiều dài của rễ. Khi so sánh hình dạng rễ bằng mắt thường, rễ mẫu PAW-15 mỏng, ít nhánh và dài hơn so với rễ của các mẫu còn lại. Rễ của các mẫu PAW-10 đến PAW-30 ngắn hơn, dày hơn và có nhiều rễ phụ hoặc tơ, đặc biệt đối với mẫu PAW-15. Chiều dài rễ không phải là yếu tố quyết định đến sự phát triển và chất lượng của cây ăn lá. Trong quá trình nảy mầm, hạt có đủ chất dinh dưỡng từ các chất dinh dưỡng dự trữ bên trong hạt cho phôi phát triển. Sau giai đoạn nảy mầm, cây con cần thêm các chất dinh dưỡng bên ngoài để cây phát triển. Trong PAW,  $\text{NO}_3^-$  không chỉ là một phân tử tín hiệu mà còn là một chất có thể gián tiếp bổ sung chất dinh dưỡng cho cây con. Như vậy, cây con ở tất cả các mẫu PAW đều có chỉ số sinh trưởng cao hơn so với mẫu đối chứng.

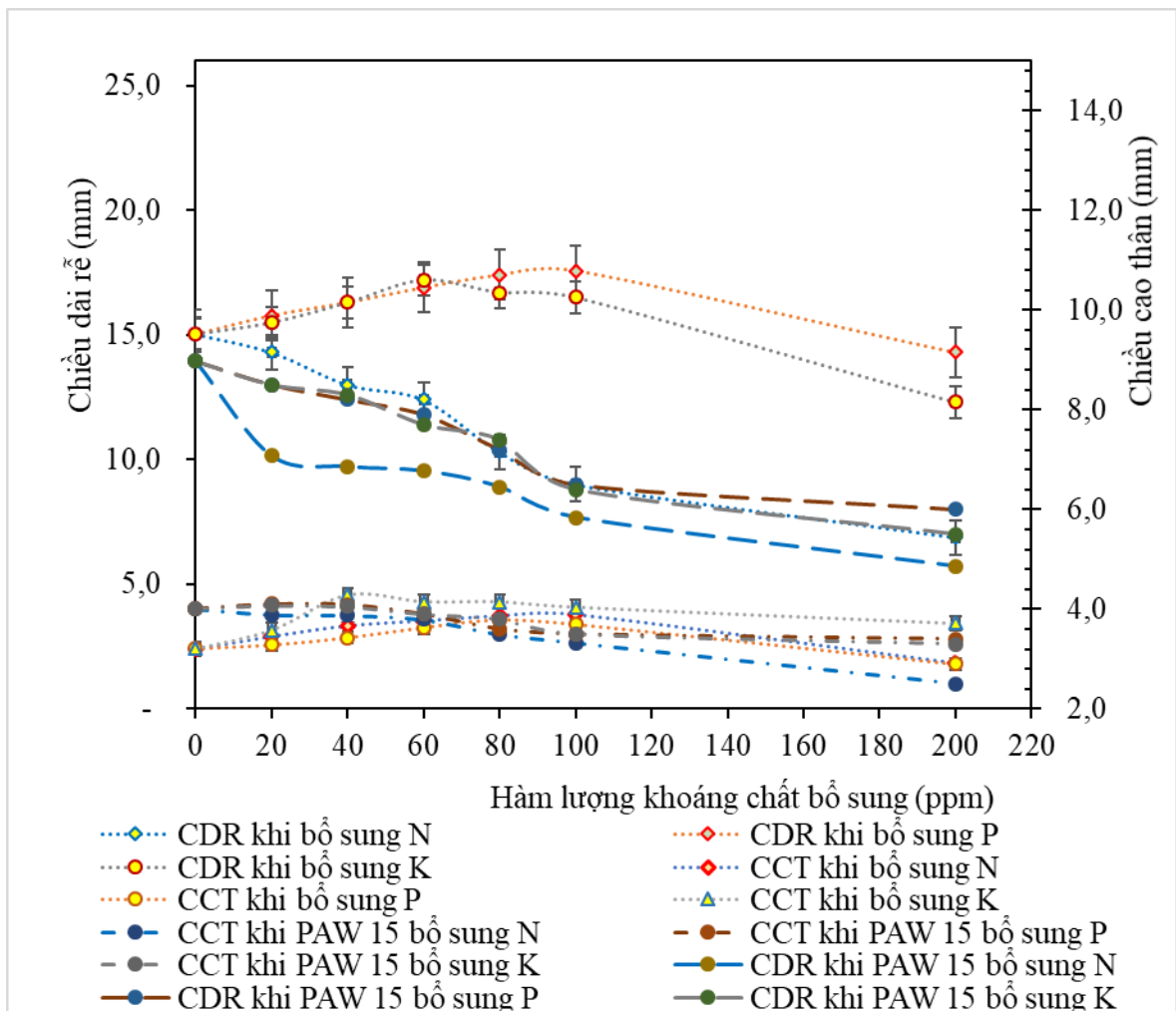
Ngay cả khi bất kỳ sự so sánh nào về độ dài của rễ là khó thực hiện, có thể thấy rằng chiều dài rễ của xà lách xoăn được bổ sung bằng nước cất (Ctrl) cao hơn gần hai lần so với các mẫu được bổ sung bằng PAW từ 5 đến 20 phút. Khi thời gian xử lý plasma tăng lên, chiều dài rễ, theo xu hướng tương tự như tỷ lệ nảy mầm của hạt đạt tối đa khoảng 8,97 mm đối với mẫu PAW-15. Mặc dù nhu cầu dinh dưỡng ở mỗi loài thực vật thay đổi theo từng giai đoạn phát triển khác nhau, nhưng có vẻ như hàm lượng của thành phần hóa học trong PAW-15 là thích hợp cho xà lách xoăn trong giai đoạn nảy mầm và phát triển của nó. RONS kiểm soát nhiều quá trình khác nhau trong thực vật, bao gồm cả quá trình sinh trưởng và phát triển. Nhiều nghiên cứu cho thấy rằng  $\text{H}_2\text{O}_2$  tạo ra các protein liên quan đến tín hiệu và

sinh trưởng của thực vật giúp kéo dài tế bào, phân chia và kiểm soát chu kỳ tế bào [109]. Khi  $H_2O_2$  được hấp thụ vào tế bào, nó tạo ra  $O_2$  để hô hấp tế bào tốt hơn trong ti thể và các quá trình trao đổi chất [160]. Tuy nhiên, hàm lượng  $H_2O_2$  cao có thể gây tổn thương DNA dẫn đến đứt gãy sợi đôi trong bộ gen và ảnh hưởng đến khả năng sống của tế bào [161], đây có thể là nguyên nhân làm mất năng suất của cây con. Trong cơ thể sống,  $H_2O_2$  phản ứng với các chất nội sinh trong tế bào và tạo ra kết tủa màu nâu ở rễ hoặc lá [162]. Khi so sánh hình thái rễ của hai cây con ở PAW-5 và PAW-30, nhận thấy rễ của cây con được xử lý bằng PAW trong 30 phút thể hiện dấu vết của  $H_2O_2$  cao hơn (màu nâu sẫm xuất hiện ở đầu rễ) so với cây con được xử lý trong PAW-5. Điều này chứng tỏ hàm lượng  $H_2O_2$  trong mẫu PAW-30 là quá nhiều so với mức yêu cầu của cây con. Mẫu PAW-15 có hàm lượng  $H_2O_2$  phù hợp với sinh trưởng của cây con giúp cây cao, chắc, rễ cũ phát triển nhanh và mọc thêm rễ phụ giúp cây hấp thụ dinh dưỡng cũng như quang hợp.

Hình 3.50 thể hiện ảnh hưởng của PAW-15 có bổ sung hàm lượng N, P, K tăng dần từ 0 đến 200 ppm với chiều cao thân và chiều dài rễ. Trong biểu đồ này, giá trị của PAW-15 được dùng làm đối chứng khi xây dựng các đường biểu diễn của PAW15 kết hợp N, P, K bổ sung

Quan sát cho thấy: Đối với N, chiều cao thân và chiều dài rễ ở các mẫu PAW15 với việc bổ sung N từ 0 đến 200 ppm, có xu hướng giảm nhẹ so với đối chứng chỉ có PAW15. Ở mẫu PN20, chiều cao thân đạt giá trị cao nhất như mẫu N80 ở khảo sát trước. Chiều dài rễ cũng có xu hướng tương tự như chiều cao thân được khảo sát. Kết hợp quan sát hình ảnh thực tế (hình 3.50) cho thấy, dù chiều cao thân và rễ ở các mẫu có vẻ ngắn hơn mẫu đối chứng nhưng thân và rễ có vẻ cứng cáp hơn khá nhiều, rễ xuất hiện nhiều lông tơ.

Hiện nay chưa có nghiên cứu về việc bổ sung thêm N, P, K vào nước hoạt hóa plasma để khảo sát về khả năng phối hợp giữa chúng cho sự nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn đầu của hạt. Tuy vậy các nghiên cứu gần đây cũng đã nghiên cứu về sự khác biệt giữa hàm lượng các hoạt chất trong các mẫu PAW đối với quá trình nảy mầm và sinh trưởng. Điều đó cho thấy số lượng và hàm lượng của các hoạt chất đóng vai trò quan trọng cho việc cải thiện chất lượng quá trình nảy mầm và sinh trưởng.



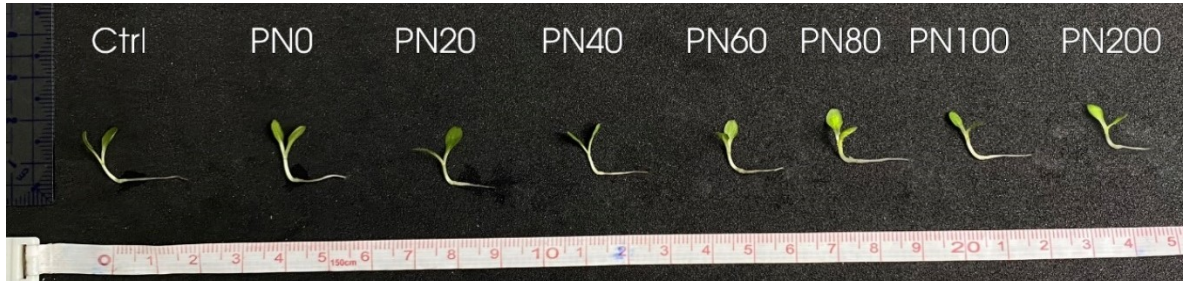
Hình 3.50. Biểu đồ biểu diễn chiều cao thân và chiều dài rễ đối với các điều kiện không và có PAW-15 kết hợp bổ sung N, P, K tăng dần từ 0 đến 200 ppm

Tuy nhiên, trong nước plasma có chứa nhiều ROS và RNS nên việc bổ sung thêm nitrogen ở các hàm lượng từ 0 đến 200 ppm có thể dẫn đến việc vượt ngưỡng N làm giảm sự phát triển của rễ chính [137]. Kết quả này có thể phù hợp với các nghiên cứu trước đây đã chứng minh hiệu quả của việc sử dụng PAW trong việc tăng cường sự phát triển của cây trồng và sự hấp thu chất dinh dưỡng đã được đề cập ở các phần trên.

Đối với K và P, quan sát cho thấy: Về chiều cao thân, không có sự khác biệt nhiều giữa các mẫu khảo sát với điều kiện được đề cập, gần như tương tự các mẫu có N; Về chiều dài rễ, xu hướng có giảm tương tự như nhưng không quá nhiều khi so với chiều dài rễ của các mẫu có bổ sung N. Kết hợp quan sát từ hình 3.51 và 3.52 cho thấy thân và rễ của xà lách xoăn trong các mẫu này đã khá cứng cáp, nhiều lông

tơ và đường kính to hơn so với các mẫu chỉ đơn thuần bổ sung N, P, K trong nước cát.

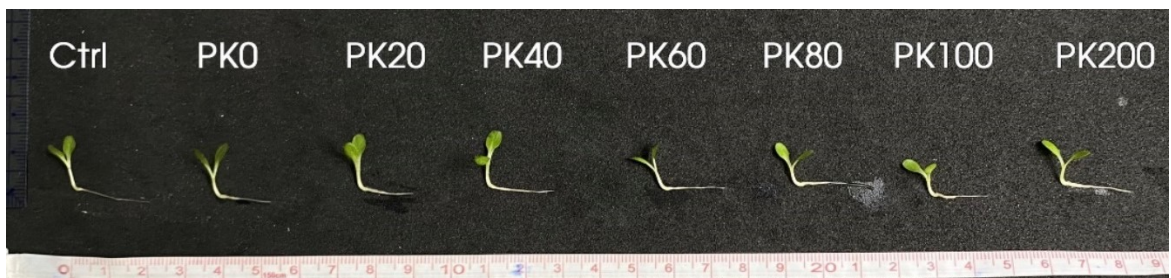
Do vậy, cần thiết khảo sát và đo đạc tiếp các chỉ số phát triển khác ở xà lách xoắn trong giai đoạn sau để làm cơ sở cho việc kết luận bổ sung N, P, K vào PAW15 có thực sự cần thiết cho sự sinh trưởng trong giai đoạn đầu hay không.



Hình 3.51. Hình ảnh cây con được thu hoạch vào ngày thứ 5 sau khi gieo dưới ảnh hưởng của PAW-15 kết hợp bổ sung hàm lượng N tăng dần từ 0 đến 200 ppm



Hình 3.52. Hình ảnh cây con được thu hoạch vào ngày thứ 5 sau khi gieo dưới ảnh hưởng của PAW-15 kết hợp bổ sung hàm lượng P tăng dần từ 0 đến 200 ppm

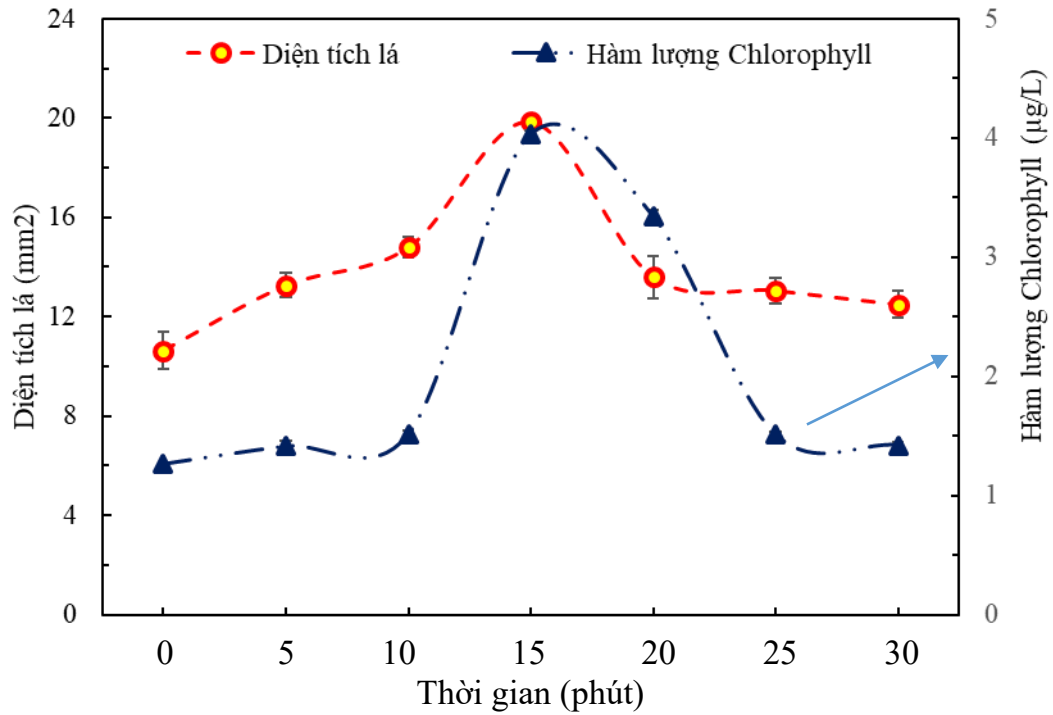


Hình 3.53. Hình ảnh cây con được thu hoạch vào ngày thứ 5 sau khi gieo dưới ảnh hưởng của PAW PAW-15 kết hợp bổ sung hàm lượng K tăng dần từ 0 đến 200 ppm

### 3.5.2.2. Diện tích lá và hàm lượng diệp lục

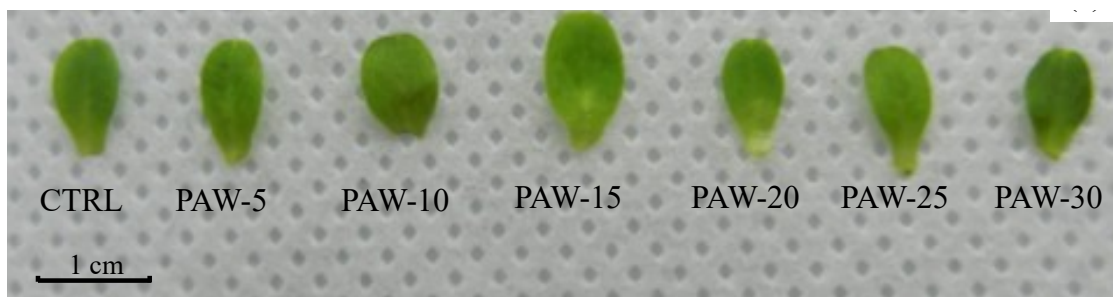
Trong nghiên cứu này, bên cạnh các thông số nêu trên, thì diện tích lá và hàm lượng diệp lục cũng được tiến hành khảo sát.

Hình 3.54 và 3.55 thể hiện hình ảnh tác động của PAW theo thời gian hoạt hóa. Kết quả hình 3.53 thấy rằng khi thời gian xử lý tăng lên, hàm lượng diệp lục trong lá tăng nhẹ so với mẫu đối chứng tương ứng (> 20%), ngoại trừ PAW-15 và PAW-20 phút có hàm lượng diệp lục cao hơn đáng kể, 4,03  $\mu\text{g/L}$  và 3,43  $\mu\text{g/L}$  tương ứng, trong khi, mẫu đối chứng chỉ đạt 1,26  $\mu\text{g/L}$ . Điều này đã chứng minh rõ ràng tác động tích cực của các loài RONS, đặc biệt là  $\text{NO}_3^-$  và  $\text{H}_2\text{O}_2$ , đối với enzyme sản xuất chất diệp lục tương tác với chất nền trong quá trình sinh trưởng của thực vật. Thật vậy, nitrate là thành phần quan trọng của quá trình quang hợp, duy trì sự sống của thực vật và tạo ra oxy và chất dinh dưỡng. Nếu không có nitrate, hàm lượng diệp lục trong lá bị giảm, làm cho lá chuyển sang màu xanh nhạt hoặc vàng [163]. Do có hàm lượng diệp lục cao nhất, diện tích lá lớn nhất, màu đậm nhất nên mẫu được xử lý bằng PAW-15 có chất lượng tốt hơn các mẫu khác. Điều này minh chứng cho nhận định hàm lượng diệp lục trong lá ở rau xanh là một chỉ tiêu chất lượng quan trọng vì khi bị thoái hóa, màu sắc của lá bị thay đổi, làm giảm chất lượng sản phẩm. Như vậy các loài RONS ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ) thúc đẩy sự hình thành các sắc tố quang hợp tích cực bằng cách tăng số lượng chất đệm và protein thylakoid trong lá cũng như bằng cách tăng sự hình thành lục lạp trong quá trình phát triển của lá [164- 167].



Hình 3.54. Biểu đồ biểu diễn diện tích lá và hàm lượng chlorophyll của xà lách xoăn sau 7 ngày xử lý bằng PAW ở thời gian hoạt hóa khác nhau

Hàm lượng diệp lục của lá xà lách xoăn có tương quan chặt chẽ với diện tích lá. Nó là một thành phần quan trọng trong quá trình quang hợp, duy trì sự sống của thực vật và tạo ra oxy và chất dinh dưỡng. Ảnh hưởng của phương pháp xử lý PAW đến diện tích và hàm lượng diệp lục của lá xà lách xoăn ở ngày thứ 7 sau khi gieo được thể hiện trong hình 3.54. Ở giai đoạn phát triển ban đầu này, hình dạng lá có thể được tính gần đúng bằng hình elip. Diện tích lớn nhất và màu tối nhất của lá được quan sát đối với mẫu PAW-15 so với các mẫu khác. Diện tích lá ở mẫu PAW-15 lớn hơn gần hai lần so với mẫu đối chứng (19,86 mm<sup>2</sup>) Giá trị này là một trong những chỉ tiêu để xác định chất lượng của rau. Lá là cơ quan quang hợp chứa sắc tố diệp lục cùng với lục lạp. Năng lượng ánh sáng được các sắc tố của chúng hấp thụ và chuyển đến các phản ứng cố định cacbon (thường gọi là phản ứng tối) để tạo ra chất hữu cơ cho cây trồng. Ngoài ra, lục lạp thực hiện một số chức năng khác, bao gồm tổng hợp acid béo, tổng hợp nhiều acid amin và phản ứng miễn dịch ở thực vật. Do đó, diện tích lá tăng lên chứng tỏ tỷ lệ quang hợp hấp thụ ánh sáng tăng, dẫn đến tỷ lệ tích lũy chất khô và năng suất cây trồng tăng lên đáng kể.



Hình 3.55. Hình ảnh sự ảnh hưởng của PAW đối với diện tích lá của xà lách xoăn

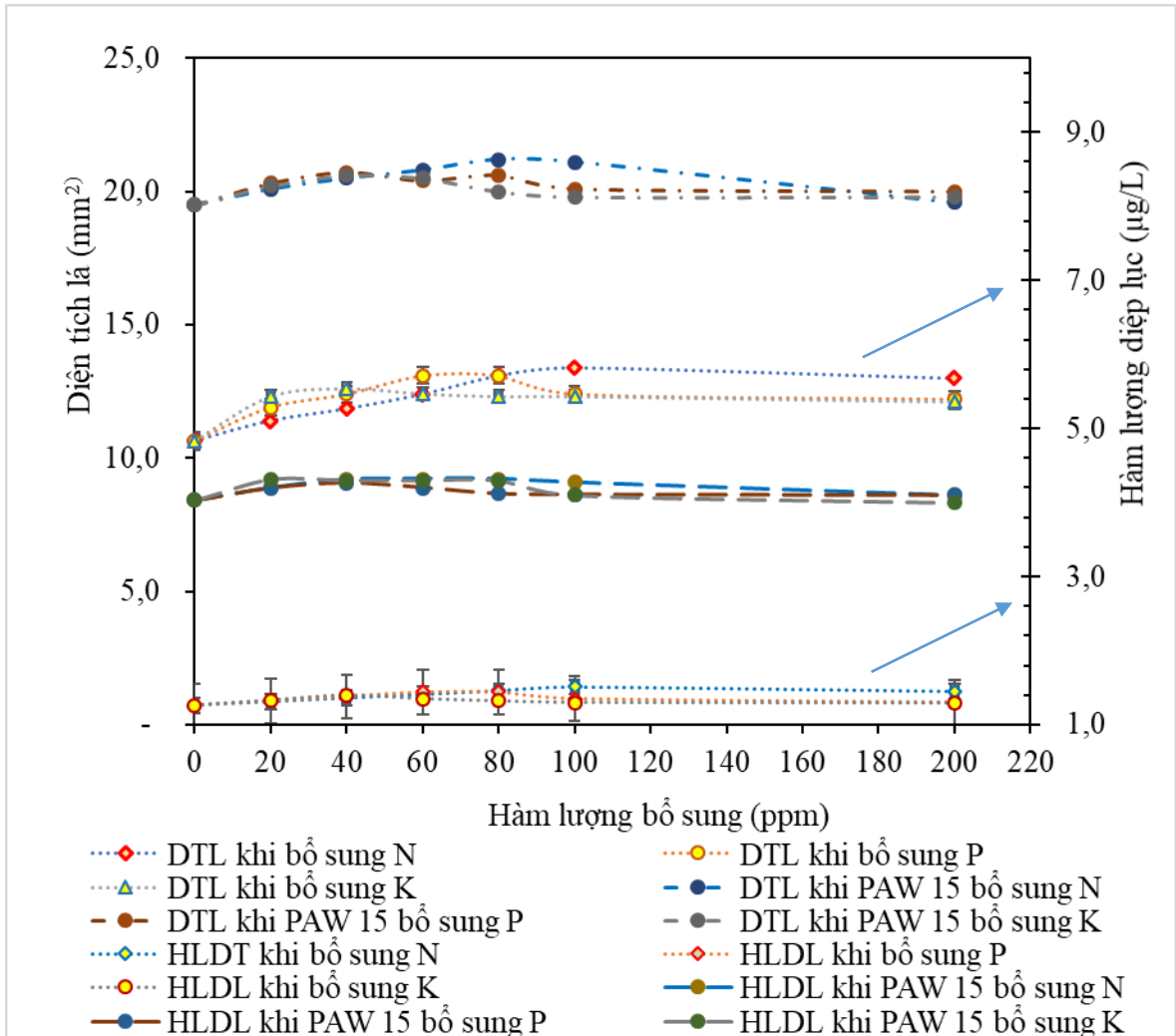
Đối với việc bổ sung khoáng chất vào PAW-15, các kết quả được thể hiện trong hình 3.56 đến hình 3.59.

Kết quả cho thấy có sự tương đồng giữa hàm lượng diệp lục và diện tích lá. Khi tăng hàm lượng trên các khoáng chất khác nhau đều chỉ ra xu hướng tăng nhẹ đến ngưỡng phù hợp, sau đó các chỉ số đều giảm tương ứng, kể cả với các chỉ số của sự nảy mầm như phần trên đã trình bày. Dưới tác động của PAW-15, diện tích lá tăng gần gấp đôi và hàm lượng diệp lục tăng 3,2 lần so với đối chứng. Trong khảo sát này, hàm lượng diệp lục và diện tích lá đều có sự tăng nhẹ nếu so mẫu PAW-15 có bổ sung khoáng chất với PAW-15, và tăng nhiều so với kết quả chỉ sử dụng nước cất có bổ sung N, P, K, cụ thể:

- Đối với việc bổ sung N: Xu hướng tăng nhẹ giá trị diện tích lá và hàm lượng diệp lục ở hàm lượng 0 đến 80 ppm lần lượt từ 3,08% đến 9,23% cho diện tích lá và 4,22% đến 7,20% cho hàm lượng diệp lục, so với mẫu đối chứng chỉ có plasma ở 15 phút. Sau đó, khi tăng hàm lượng N lên đến 200 ppm thì xu hướng giảm dần 2 chỉ số trên xuất hiện.
- Đối với việc bổ sung P: Xu hướng tăng nhẹ giá trị diện tích lá và hàm lượng diệp lục ở hàm lượng 0 đến 40 ppm lần lượt từ 4,10% đến 6,15% cho diện tích lá và 4,06% đến 5,71% cho hàm lượng diệp lục, so với mẫu đối chứng chỉ có plasma ở 15 phút. Sau đó, khi tăng hàm lượng P lên đến 200 ppm thì xu hướng giảm dần 2 chỉ số trên xuất hiện.
- Đối với việc bổ sung K: Giá trị diện tích lá và hàm lượng diệp lục đạt lớn nhất ở hàm lượng 20 ppm so với mẫu đối chứng chỉ có plasma ở 15 phút, lần lượt là 6,15% cho diện tích lá và 6,95% cho hàm lượng diệp lục. Sau đó, khi

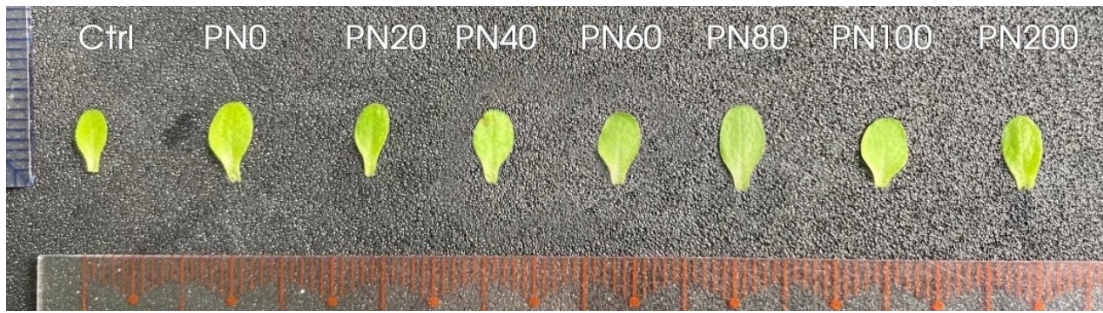


tăng hàm lượng K lên đến 200 ppm thì xu hướng giảm dần 2 chỉ số trên xuất hiện.



Hình 3.56. Biểu đồ biểu diễn diện tích lá và hàm lượng chlorophyll của xà lách xoăn dưới tác động PAW kết hợp N, P, K ở các hàm lượng khác nhau

Các hình ảnh sự khác biệt của màu sắc và diện tích lá ở xà lách xoăn dưới tác động của các khoáng chất được bổ sung với hàm lượng khác nhau sau 5 ngày cũng được quan sát và chụp lại thể hiện bằng các hình bên dưới (hình 3.57 đến 3.58) và phụ lục đính kèm. Kết quả từ hình ảnh cũng cho thấy việc bổ sung thêm N, P, K trên nền PAW-15 khiến cho diện tích lá cũng có sự thay đổi nhẹ.



Hình 3.57. Ảnh hưởng của PAW đến (a) diện tích lá và (b) hàm lượng diệp lục của lá xà lách xoắn ở ngày thứ 7 sau khi gieo ở các hàm lượng N kết hợp PAW khác nhau



Hình 3.58. Ảnh hưởng của PAW đến diện tích lá xà lách xoắn ở ngày thứ 7 sau khi gieo ở các hàm lượng P kết hợp PAW khác nhau

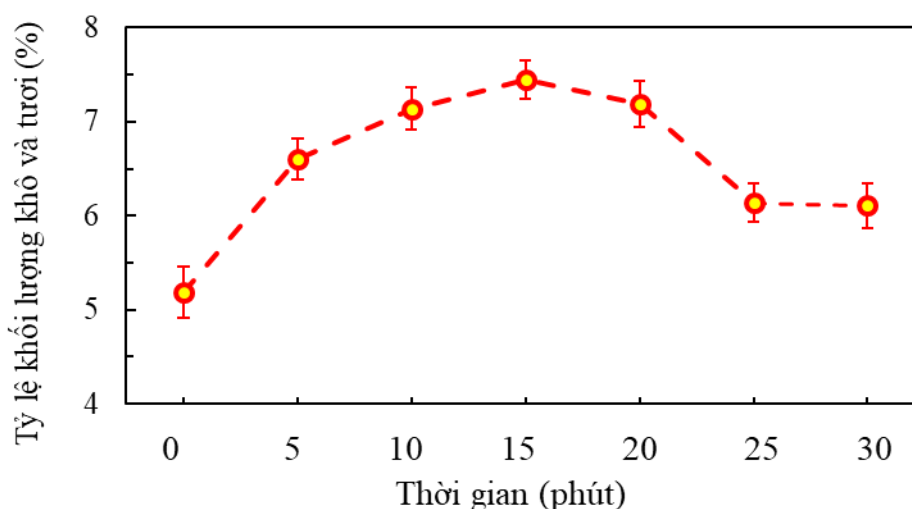


Hình 3.59. Ảnh hưởng của PAW đến diện tích lá xà lách xoắn ở ngày thứ 7 sau khi gieo ở các hàm lượng K kết hợp PAW khác nhau

### 3.5.2.3. Tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi

Hàm lượng chất khô thông qua việc tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi của lá được tiếp tục khảo sát, cũng là một thông số quan trọng trong việc đánh giá hiệu quả sinh trưởng của cây.

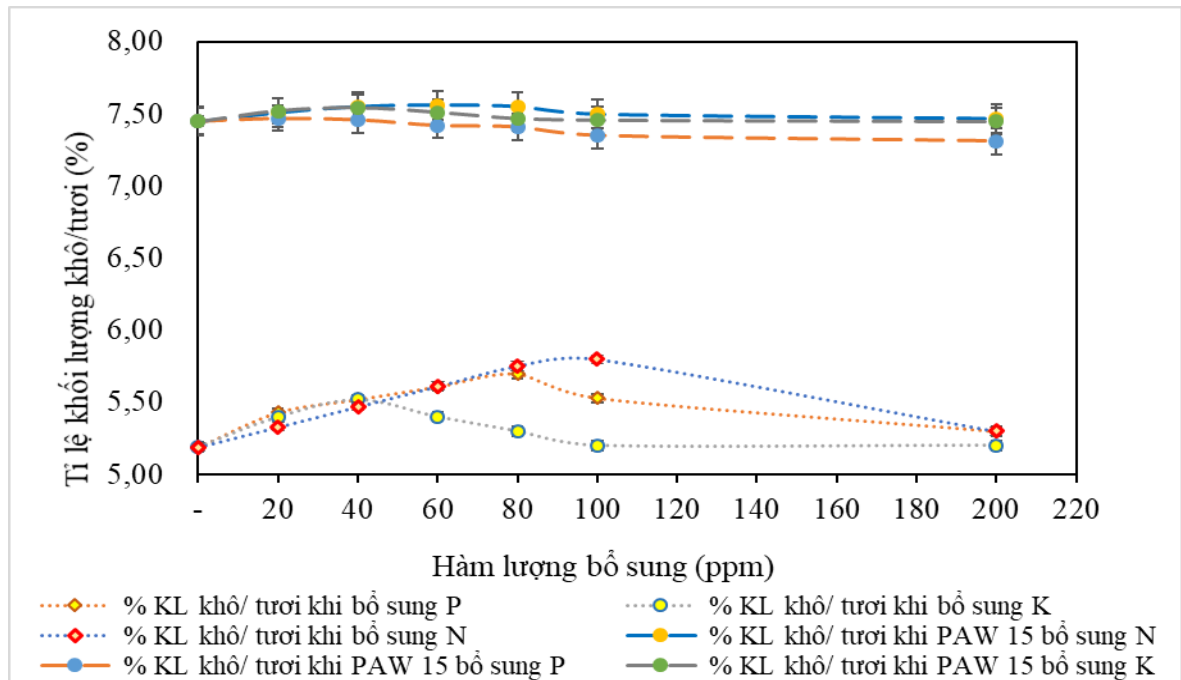
Tỷ lệ khô/ tươi của trọng lượng lá của xà lách xoăn được thể hiện trong hình 3.60 đối với các điều kiện thời gian xử lý PAW khác nhau. Đối với tất cả các điều kiện được khảo sát, các giá trị đo được cho cây được bổ sung bằng PAW với thời gian kích hoạt khác nhau đều cao hơn so với giá trị đo được cho mẫu đối chứng. Cụ thể, giá trị đo là 5,19 đối với mẫu đối chứng, tăng từ 6,60 lên 7,45 đối với mẫu PAW-5 đến PAW-20 và sau đó giảm xuống 6,11 đối với PAW-30. Có tính đến các độ không đảm bảo đo liên quan, đường cong tỷ số dường như thể hiện “giá trị ổn định” ở giá trị khoảng 7,3 đối với thời gian kích hoạt PAW trong khoảng từ 5 đến 20 phút.



Hình 3.60. Biểu đồ biểu diễn tỷ lệ trọng lượng lá khô/ tươi của xà lách xoăn ở ngày thứ 7 sau khi gieo giống như hàm của thời gian xử lý plasma

Hình 3.61 biểu đồ biểu diễn tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi của xà lách xoăn dưới tác động của các mẫu PAW có bổ sung khoáng chất. Kết quả nhận thấy với tất cả các mẫu được khảo sát, các giá trị đo được cho các mẫu đều cao. Sự tăng hay giảm tỷ lệ này của xà lách xoăn tương quan chặt chẽ với diện tích lá. Sự gia tăng tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi ở các mẫu được xử lý với PAW kết hợp N ở các hàm lượng khác nhau không nhiều so với mẫu đối chứng chỉ có PAW15. Khi hàm lượng N bổ sung trên 60 ppm, chỉ số này có xu hướng giảm dần. Điều này phù hợp với các nghiên cứu trước đây của nhóm S. Padureanu và cộng sự [153] đã chỉ ra rằng PAW làm tăng tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi ở thực vật bằng cách tăng cường hấp thu và sử dụng chất dinh dưỡng. Tuy nhiên, có thể do tác động tiêu cực của hàm lượng N cao đối với sự sinh trưởng và phát triển của cây trồng, dẫn đến giảm tích lũy sinh khối,

giảm hiệu quả sử dụng chất dinh dưỡng, gây ra stress oxy hóa và gây mất cân bằng carbon-nitơ bên trong cây [167, 168].



Hình 3.61. Biểu đồ biểu diễn tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi của xà lách xoăn dưới tác động của các mẫu PAW có bổ sung khoáng chất

Đối với việc bổ sung P, chỉ một lượng nhỏ hàm lượng bổ sung vào (20- 40 ppm), có thể có sự kết hợp giữa P và các chất có trong PAW ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) làm gia tăng sự tích lũy sinh khối dẫn đến tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi có tăng nhẹ, sau đó khi bổ sung lượng P cao hơn, chỉ số này có xu hướng giảm dần. Điều này có thể được lý giải là khả năng hấp thụ dinh dưỡng của cây giảm ở ngưỡng bổ sung khoáng chất càng cao.

Đối với việc bổ sung K: K cũng đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa quá trình trao đổi và cố định  $\text{N}^-$  mà trong đó diệp lục là nơi dự trữ N chủ yếu của cây. Cung cấp đủ K có thể thúc đẩy chuyển hóa N và tăng cường tổng hợp acid amine và protein [169]. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của H. T. Floor và cộng sự [170], ở hàm lượng  $\text{NH}_4^+$  cao trong môi trường rễ, đặc biệt khi kết hợp với lượng  $\text{K}^+$  thấp, thực vật sẽ bị nhiễm độc  $\text{NH}_4^+$  do sự cạnh tranh trực tiếp trong quá trình hấp thu ở rễ. Do đó, việc bổ sung K ở hàm lượng cao không gây ra sự thay đổi đáng kể của tỷ lệ khô/ tươi được khảo sát.

### 3.5.3. *Nhận xét chung*

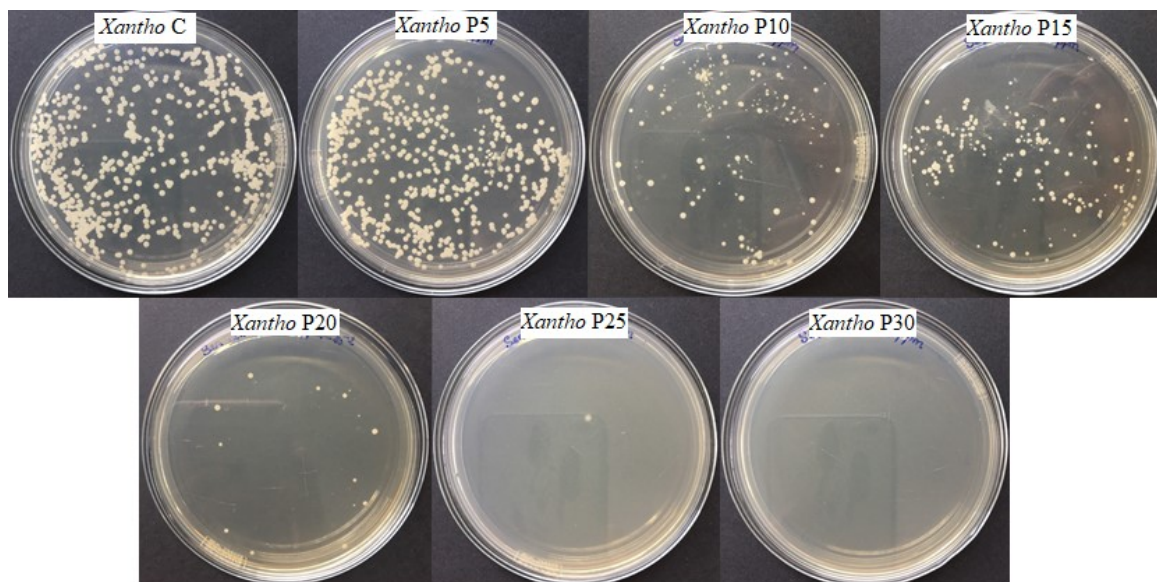
Qua nghiên cứu cho thấy, trong các mẫu PAW theo thời gian thì mẫu PAW-15 cho thấy khả năng sinh trưởng và nảy mầm giai đoạn đầu tốt nhất ở xà lách xoăn trong 7 ngày nghiên cứu. Yếu tố quyết định cho việc này là do PAW chứa các hợp chất của RONS và RNS ở hàm lượng phù hợp, gây ra những thay đổi về hình thái trên hạt xà lách xoăn dẫn đến sự hấp thu nước và chất dinh dưỡng tốt hơn. Để đánh giá xem PAW-15 có thực sự thúc đẩy tối đa quá trình nảy mầm và sinh trưởng chưa, việc bổ sung khoáng chất N, P, K vào PAW-15 để khảo sát, cho thấy, tỷ lệ nảy mầm, các chỉ số sinh trưởng vẫn có xu hướng tăng nhẹ ở hàm lượng bổ sung thấp. Việc bổ sung này sẽ gây hiệu quả tiêu cực nếu khoáng chất N, P, K được sử dụng ở hàm lượng cao. Từ kết quả trên cho thấy sự cần thiết của việc dùng PAW kết hợp các khoáng đa lượng N, P, K nhằm cải thiện tỷ lệ nảy mầm và khả năng phát triển của hạt.

### 3.5.4. *Khả năng kháng khuẩn - kháng nấm của PAW*

#### 3.5.4.1. *Kháng khuẩn*

Hoạt tính kháng khuẩn của các mẫu dung dịch tạo bởi plasma lạnh được đánh giá bằng phương pháp xác định hàm lượng ức chế tối thiểu. Kết quả xác định hàm lượng ức chế tối thiểu MIC của dung dịch tạo bởi plasma lạnh đến vi khuẩn *Xanthomonas* spp. thể hiện ở hình 3.16

Hình 3.16 cho thấy điểm MIC của dung dịch tạo bởi plasma lạnh là ở thời gian 25 phút vì ở điều kiện này dung dịch tạo bởi plasma lạnh có khả năng ức chế hoàn toàn sự phát triển của vi khuẩn *Xanthomonas* spp. Dung dịch tạo bởi plasma lạnh ở các khoảng thời gian dưới 25 phút không ảnh hưởng đến sự phát triển của vi khuẩn *Xanthomonas* spp. Kết quả này thể hiện dung dịch tạo bởi plasma lạnh có khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh đốm lá rất cao. Sau 1 ngày cấy vi khuẩn, mật độ khuẩn lạc giảm khi thời gian hoạt hóa plasma tăng lên, trong đó số khuẩn lạc cao nhất là ở mẫu đối chứng.



Hình 3.62. Ảnh chụp các đĩa thạch có chứa mẫu đối chứng và các dung dịch tạo bởi plasma lạnh ở thời gian khác nhau với *Xanthomonas* spp.

Hiệu quả kháng tăng theo thời gian là do sự gia tăng hàm lượng ROS và RNS được hình thành trong quá trình dung dịch bị tác động bởi các tia plasma lạnh.

Bảng 3.2. Kết quả bán kính vòng kháng khuẩn các loại dung dịch tạo bởi plasma lạnh ở thời gian khác nhau

Mẫu	C	PAW-5	PAW-10	PAW-15	PAW-20	PAW-25	PAW-30
Bán kính vòng kháng khuẩn (mm)	0	0	0	$2 \pm 0,05$	$5 \pm 0,05$	$7 \pm 0,05$	$8 \pm 0,05$

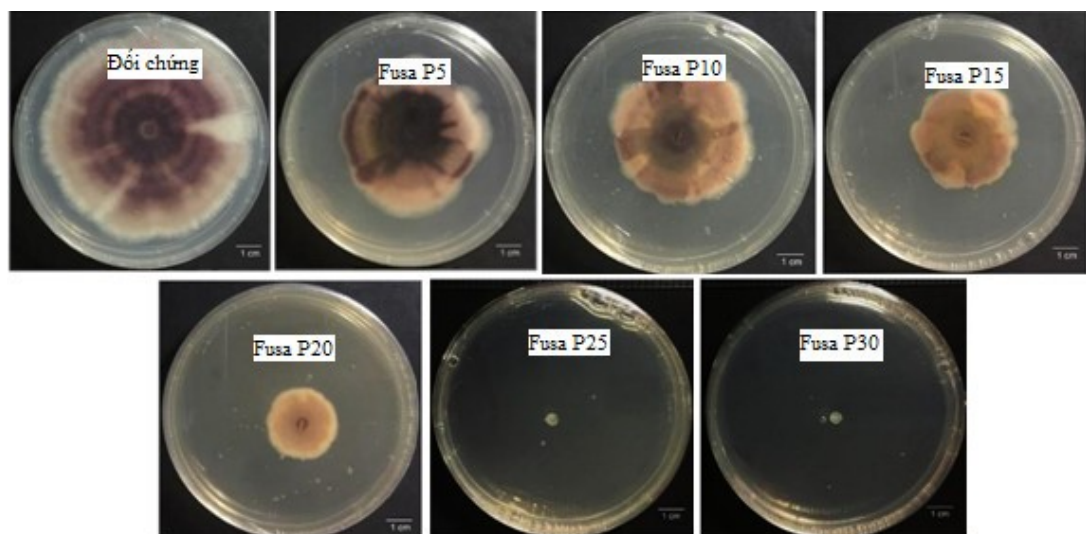
Trong trường hợp xác định hiệu quả kháng khuẩn của dung dịch tạo bởi plasma lạnh dựa vào bán kính vòng kháng khuẩn ở bảng 3.2 thể hiện rõ dung dịch tạo bởi plasma trong khoảng thời gian 15 phút thì vòng kháng khuẩn bắt đầu xuất hiện với bán kính là 02 mm. Thời gian tác động của tia plasma càng dài thì đường kính vòng kháng khuẩn càng lớn. Điều này chỉ ra rằng dung dịch tạo bởi plasma lạnh hoàn toàn có khả năng kháng *Xanthomonas* spp.

Có nhiều nhóm nghiên cứu đưa ra các cơ chế kháng khuẩn của dung dịch tạo bởi plasma lạnh. R. Laurita và cộng sự cho rằng chính giá trị pH thấp và sự hình thành của  $H_2O_2$  trong dung dịch tạo bởi plasma lạnh đã tạo nên khả năng kháng

khuẩn của nó [171]. Trong khi đó, Traylor và cộng sự cho rằng dung dịch tạo bởi plasma lạnh gây ra sự ức chế vi khuẩn là do các khoáng chất sinh ra từ sự tương tác của  $H_2O_2$  và ion  $NO_2^-$  [106]. Một nghiên cứu khác của K. Oehmigen và cộng sự [5] đã chỉ ra cơ chế kháng khuẩn chi tiết hơn là trong điều kiện acid, quá trình oxy hóa bởi các gốc hydroperoxyl và quá trình peroxy hóa lipid của màng tế bào bắt đầu. Do đó, màng tế bào bị phá hủy để tạo điều kiện cho các proton đi vào bên trong tế bào. Đồng thời, gốc  $ONOOH^*$  được tạo ra bởi các gốc N thâm nhập vào bên trong tế bào vi khuẩn và phân hủy thành  $NO_2^-$  và  $OH^*$  có tính oxy hóa cao và phá hủy tế bào vi sinh vật từ bên trong [173,172]. Ngoài ra, các công trình khác đã xác định một số tác nhân tích cực đối với quá trình bất hoạt vi khuẩn của dung dịch tạo bởi plasma lạnh là nhờ vào sự kết hợp của nhiều yếu tố như giá trị pH,  $O_2$  và  $N_2$  [172,174]. Từ các nghiên cứu trên cho thấy hiệu quả kháng khuẩn của dung dịch tạo bởi plasma lạnh phụ thuộc vào nhiều yếu tố như: Giá trị pH, ROS và RNS. Tùy thuộc vào thành phần, tỷ lệ và hàm lượng các chất và thời gian tiếp xúc của dung dịch tạo bởi plasma lạnh với vi sinh vật.

#### 3.5.4.2. Kháng nấm

Phương pháp xác định hàm lượng ức chế tối thiểu MIC được sử dụng để đánh giá hoạt tính kháng nấm của các mẫu dung dịch tạo bởi plasma lạnh. Kết quả xác định hàm lượng ức chế tối thiểu MIC của dung dịch tạo bởi plasma lạnh đến nấm *Fusarium* spp. thể hiện ở hình 3.52.



Hình 3.63. Ảnh chụp các đĩa thạch có chứa mẫu đối chứng và các dung dịch tạo bởi plasma lạnh ở thời gian khác nhau với nấm *Fusarium* spp.

Hình trên cho thấy dung dịch tạo bởi plasma lạnh ở các khoảng thời gian dưới khác nhau có ảnh hưởng đến sự phát triển của sợi nấm *Fusarium spp.* không giống nhau. Cụ thể hơn, ở mẫu C và PAW-5, ta thấy sợi nấm phát triển đồng đều, xốp mịn, lan rộng, màu sắc thể hiện rõ. Trong khi đó mẫu PAW-10 và PAW-15 thì sự phát triển của sợi nấm bắt đầu bị kìm hãm, sợi nấm bắt đầu phát triển không đồng đều và đến mẫu PAW-20 thì sợi nấm bị co ép lại, đường kính tản nấm cũng nhỏ hơn và không mịn như các mẫu dung dịch tạo bởi plasma lạnh có thời gian 5–15 phút. Với mẫu PAW-25 và PAW-30 thì hoàn toàn không có sợi nấm xuất hiện. Vậy nên ta có thể kết luận điểm MIC của dung dịch tạo bởi plasma lạnh là ở thời gian 25 phút.

*Bảng 3.3.* Kết quả bán kính vòng kháng khuẩn các loại dung dịch tạo bởi plasma lạnh ở thời gian khác nhau

Mẫu	C	PAW-5	PAW-10	PAW-15	PAW-20	PAW-25	PAW-30
Bán kính vòng kháng nấm (mm)	0	0	0	0	1 ± 0,05	3 ± 0,05	4 ± 0,05

Bảng 3.3 cho thấy vòng kháng khuẩn chỉ xuất hiện từ khoảng thời gian 20 phút trở lên. Điều này phù hợp với nghiên cứu trước đây, dung dịch tạo bởi plasma lạnh ở thời gian lâu hơn là 25 và 30 phút có vòng kháng nấm to hơn, điều này là do các hợp chất có khả năng kháng nấm có trong dung dịch tạo bởi plasma lạnh hàm lượng cao hơn [175].

Dựa vào các kết quả thu được ở hình 3.63 và bảng 3.4 ta có thể thấy dung dịch tạo bởi plasma lạnh có hiệu quả kháng nấm thấp hơn so với hiệu quả kháng khuẩn trong các điều kiện tương đương. Điều này được giải thích là do sự khác biệt về cấu trúc và thành phần của tế bào vi sinh vật nhân sơ và nhân thực. Cấu trúc tế bào của nấm phức tạp hơn vi khuẩn, do đó phải áp dụng các điều kiện điều chế dung dịch tạo bởi plasma lạnh khác nhau để đạt được hiệu quả bất hoạt tương đương [175, 176]. Về tác động kháng nấm thì dung dịch tạo bởi plasma lạnh đã làm



bào tử nấm bị vỡ ra, teo lại và đẹt, bề mặt tế bào thô ráp, nhẵn nheo [177]. Avramidis và cộng sự [178] đã sử dụng kính hiển vi quang học, họ quan sát thấy dung dịch tạo bởi plasma lạnh làm cấu trúc thành tế bào và màng tế bào bị hư hỏng, dẫn đến rò rỉ tế bào chất. Một nghiên cứu khác của Dasan và cộng sự, dựa vào ảnh thu được từ kính hiển vi điện tử quét (Scanning Electron Microscope – SEM) đã chứng minh rằng các bào tử của *A. Parasiticus* mất tính toàn vẹn sau khi xử lý bằng dung dịch tạo bởi plasma lạnh và các chất trong tế bào phân tán thành các cụm [179]. Dựa trên những quan sát này, có thể giả thuyết rằng cơ chế kháng nấm của dung dịch tạo bởi plasma lạnh là do các ROS, cụ thể là  $\bullet\text{OH}$  và oxy đơn  $\text{O}_2\bullet$  trong dung dịch tạo bởi plasma lạnh có xu hướng tấn công các acid béo không no trên màng tế bào dẫn đến phá vỡ thành tế bào nấm và gây ra sự xâm nhập của các ion, các hợp chất phân cực vào trong tế bào [180] và/ hoặc bị rò rỉ các thành phần nội bào như acid nucleic và protein do đó dẫn đến giảm hoạt động trao đổi chất dẫn đến chết tế bào [181].

Với khả năng tạo ra các RNS và ROS từ sự phóng plasma lạnh vào nước được hình thành trong quá trình dung dịch bị tác động bởi các tia plasma lạnh mà PAW thể hiện rõ khả năng kháng khuẩn và nấm. Hiệu quả kháng tăng theo thời gian là do sự gia tăng hàm lượng của các hợp chất được tạo ra.

## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### Kết luận

Trong luận án này, nước hoạt hóa plasma đã được nghiên cứu điều chế bằng kỹ thuật phóng plasma khí-lông trên hai kiểu phóng là DBD và Corona. Đặc trưng điện học của hệ tạo plasma cũng như thành phần, tính chất của các PAW cũng đã được phân tích và đánh giá. Ngoài ra nghiên cứu cũng tiến hành đánh giá hoạt tính nhằm cải thiện quá trình phát triển của xà lách xoăn (*Lactuca sativa* L.) ở giai đoạn đầu thông qua chỉ số trọng lượng nghìn hạt, chiều dài phôi, tỷ lệ nảy mầm cho sự nảy mầm và chỉ số chiều cao thân, chiều dài rễ, hàm lượng diệp lục, tỷ lệ trọng lượng khô/tươi, diện tích lá cho quá trình sinh trưởng trên các tác nhân trong các trường hợp sau: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, N, P, K, PAW và sự kết hợp PAW với N, P, K. Kết quả thu được như sau:

- ✓ Đã xây dựng thành công 02 hệ thống tạo PAW từ việc phóng điện theo 2 kiểu phóng plasma Corona và plasma DBD trên cùng 1 nguồn phát tự chế tạo. Các hệ này cũng đã được xác định đặc trưng điện học trên máy đo hiện sóng với các thông số về điện áp, dòng điện và tần số. Trên cơ sở đó xác định đặc trưng điện của kiểu phóng plasma và công suất tiêu thụ của hệ plasma. Kết quả cho thấy nguồn phát tạo ra kiểu phóng dạng xung, dạng đặc trưng của plasma lạnh, với công suất tiêu thụ không cao chỉ 47 W. Từ kết quả cho thấy hệ thống có thể triển khai hiệu quả khi áp dụng trên quy mô lớn.
- ✓ Đã xác định được thành phần, tính chất của tất cả các mẫu PAW được điều chế từ 2 kiểu phóng. Qua đó đã lựa chọn được mẫu PAW phù hợp để áp dụng cho nghiên cứu về nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn đầu của xà lách xoăn. Kết quả cho thấy mẫu PAW với thời gian phóng 15 phút bởi hệ plasma DBD là phù hợp nhất cho nghiên cứu.
- ✓ Đã chỉ ra được vai trò của tác chất oxy hóa H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> đối với quá trình nảy mầm và sinh trưởng cũng như hoạt tính cho kháng khuẩn, kháng nấm. Kết quả cho thấy, ở hàm lượng thấp, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ở hàm lượng < 10 ppm có vai trò như một phân tử tín hiệu, kích thích tốt cho sự nảy mầm và sinh trưởng hạt. Mặt khác với hàm lượng H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> cao (> 1.000 ppm) sẽ bất hoạt các vi khuẩn và nấm gây

bệnh có trên hạt, có tác dụng tốt cho quá trình rửa hạt, làm sạch mẫu nhằm hạn chế sự phát sinh mầm bệnh trong giai đoạn đầu.

- ✓ Đã chỉ ra được vai trò của khoáng chất vô cơ N, P, K đối với quá trình nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn đầu trên xà lách xoăn. Kết quả đã xác định được hàm lượng phù hợp của các khoáng chất trên cho sự phát triển tốt của cây trong giai đoạn đầu phát triển. Hàm lượng phù hợp cho quá trình này là 100 ppm với N, 80 - 100 ppm với P và 20 - 40 ppm với K. Kết quả lại cho thấy sự cần thiết phải bổ sung dinh dưỡng N, P, K trong giai đoạn ban đầu của hạt.
- ✓ Đã chỉ ra hoạt tính cao của PAW cho sự nảy mầm và sinh trưởng của xà lách xoăn. Thật vậy nước được hoạt hóa bằng plasma lạnh với kiểu phóng DBD trong thời gian từ 10 đến 20 phút sẽ chứa các RON, RNS ở hàm lượng phù hợp, có tác động tích cực và hiệu quả cho sự nảy mầm của hạt và sự phát triển của cây con. Ngoài ra nghiên cứu cũng chỉ ra khả năng kháng khuẩn và nấm của PAW, giúp ức chế sự phát triển của vi sinh vật.
- ✓ Đã chỉ ra việc kết hợp PAW-15 với các khoáng chất vô cơ như N, P, K trong giai đoạn đầu đối với quá trình nảy mầm và sinh trưởng trên xà lách xoăn là cần thiết. Thật vậy, việc kết hợp bổ sung các khoáng chất N, P, K ở liều lượng nhỏ: 40- 60 ppm với N, 20- 40 ppm với P và dưới 10 ppm với K vào dung dịch PAW-15 cho thấy có sự gia tăng cho cả hai quá trình là nảy mầm và sinh trưởng của cây khi so sánh với mẫu đối chứng và mẫu PAW-15. Kết quả này đã tìm ra được ngưỡng phát triển tối ưu của cây trồng trong trường hợp này.

### **Kiến nghị**

Nghiên cứu thêm sự tương tác của hỗn hợp N, P, K với PAW cho quá trình nảy mầm và sinh trưởng xà lách xoăn. Đồng thời tìm hiểu sâu hơn về cơ chế tương tác qua lại giữa thành phần, hàm lượng của các chất tạo ra từ PAW và các nguyên tố bổ sung vào nhằm làm cơ sở hoàn thiện hơn cho các quá trình, cơ chế sinh lý thực

vật, qua đó khẳng định vai trò và khả năng sử dụng nước hoạt hóa plasma trong nông nghiệp và công nghiệp.

Khảo sát các chỉ số phát triển của PAW trên xà lách xoăn trong giai đoạn sau để minh chứng cho hiệu quả của PAW và sự kết hợp bổ sung N, P, K với PAW.

Thử nghiệm PAW trên các đối tượng rau khác trong cùng họ để kiểm tra sự tương tác, sự sinh trưởng và phát triển của thực vật nhằm làm nền tảng cho các nguyên cứu tiếp theo.

Đánh giá thêm sự khác biệt hiệu quả giữa PAW và khí plasma cho quá trình sinh trưởng và phát triển của xà lách xoăn.

### **Những đóng góp mới của luận án**

Luận án đã thành công trong việc nghiên cứu đánh giá so sánh lựa chọn các thông số của nước hoạt hóa plasma cho phù hợp với mục tiêu cải thiện quá trình sinh trưởng và phát triển trong giai đoạn đầu của xà lách xoăn. Trên thế giới, các nghiên cứu trước về cơ chế tác động của nước hoạt hóa plasma đối với cây trồng chỉ đánh giá trên vài yếu tố tác động. Kết quả nghiên cứu của luận án này đã đánh giá trên nhiều yếu tố tác động hơn để làm hoàn thiện hơn cơ chế tác động của nước hoạt hóa plasma với cây trồng.

Luận án cũng tiến hành đánh giá thí nghiệm các mẫu cho nảy mầm, tăng trưởng trong giai đoạn đầu phát triển của đối tượng nghiên cứu, nhằm xác định sự cần thiết sử dụng thêm các vi lượng N, P, K cho quá trình nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn đầu.

Luận án đã đánh giá cơ chế tác động của nước hoạt hóa plasma kết hợp với đơn yếu tố và đa yếu tố nhằm làm cơ sở hoàn thiện hơn cho các quá trình, cơ chế sinh lý thực vật, kiểm tra các yếu tố bổ sung từ ngoài vào, có thể có tác động âm trong các kết quả. Qua đó khẳng định vai trò và khả năng sử dụng nước hoạt hóa plasma trong nông nghiệp và công nghiệp.

Nghiên cứu cũng có giá trị trong việc thuần hóa, cải tạo giống cây thường thích hợp trồng ở điều kiện ôn đới sang điều kiện nhiệt đới khi ứng dụng nước hoạt hóa plasma cho nảy mầm và tăng trưởng.

Luận án đã nghiên cứu kết hợp nước hoạt hóa plasma với các khoáng chất vô cơ như N, P, K nhằm chỉ ra các thông số tốt nhất, cải thiện quá trình nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn đầu của xà lách xoăn *Lactuca sativa* L. Đây là chìa khóa của việc thực hiện cải tạo giống cho cây trồng trong nông nghiệp mà hiện nay các sáng chế về hướng này chưa có nhiều và chưa có độ sâu nhất định.

Luận văn cũng nhằm kết hợp nghiên cứu các yếu tố hỗn hợp lý, hóa, sinh để hệ thống và hoàn thiện hệ tạo plasma, nhằm trả lời câu hỏi sự tác động của nước hoạt hóa plasma và ảnh hưởng của các yếu tố ngoại lai đối với cây trồng.