

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC

VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



THÂN QUỐC AN HẠ

**NGHIÊN CỨU ĐIỀU CHẾ VÀ KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA
DUNG DỊCH HOẠT HÓA PLASMA KẾT HỢP KHOÁNG ĐA
LƯỢNG CHO SỰ NẢY MÀM VÀ SINH TRƯỞNG GIAI ĐOẠN
ĐẦU CỦA XÀ LÁCH XOĂN (*LACTUCA SATIVA* L.)**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỌC

Tp. Hồ Chí Minh - Năm 2023

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

THÂN QUỐC AN HẠ

NGHIÊN CỨU ĐIỀU CHẾ VÀ KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA
DUNG DỊCH HOẠT HÓA PLASMA KẾT HỢP KHOÁNG ĐA
LƯỢNG CHO SỰ NẢY MÀM VÀ SINH TRƯỞNG GIAI ĐOẠN
ĐẦU CỦA XÀ LÁCH XOĂN (*LACTUCA SATIVA* L.)

LUẬN ÁN TIẾN SĨ NGÀNH HÓA VÔ CƠ

Mã số: 9 44 01 13

Xác nhận của Học viện
Khoa học và Công nghệ

KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC



Nguyễn Thị Trung

Người hướng dẫn 1
(Ký, ghi rõ họ tên)

PGS.TS. PHẠM HỮU THIÊN

Người hướng dẫn 2
(Ký, ghi rõ họ tên)

GS.TS. AHMED KHACEF

Tp. Hồ Chí Minh – Năm 2023

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 đề tài nghiên cứu trong 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 công trình nghiên cứu của tôi dựa trên những tài liệu, số liệu do chính tôi tự tìm hiểu và nghiên cứu. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận án là trung thực, nếu sai tôi hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật.

TP. Hồ Chí Minh, ngày 08 tháng 08 năm 2023

Người cam đoan



Thân Quốc An Hạ

Lời cảm ơn

Trong suốt quá trình thực hiện luận án, tôi đã học hỏi thêm được rất nhiều kiến thức, kinh nghiệm và kỹ năng chuyên môn bổ ích, thiết thực từ quý Thầy Cô và Bạn bè.

Với sự trân trọng và biết ơn sâu sắc, tôi xin gửi lời trân trọng cảm ơn đến:

+ **PGS. TS. Phạm Hữu Thiện** – Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam;

+ **GS. TS. Ahmed KHACEF** – Phòng nghiên cứu GREMI (CNRS – Université d'Orléans – Cộng hòa Pháp);

là hai Thầy đã trực tiếp hướng dẫn, dành nhiều thời gian, tâm huyết và công sức để truyền đạt cho tôi những kiến thức quý báu, hỗ trợ vật chất lẫn tinh thần, giúp tôi định hướng con đường nghiên cứu của mình trong suốt quá trình thực hiện đề tài;

Xin chân thành cảm ơn Quý Thầy Cô Ban Lãnh đạo Học viện Khoa học & Công Nghệ

Đã tạo điều kiện tốt nhất cho tôi trong suốt thời gian đào tạo, thực hiện và hoàn thành luận án;

Xin chân thành cảm ơn Quý Thầy Cô, Anh Chị ở các phòng ban chức năng Học viện Khoa học & Công Nghệ

Đã hỗ trợ, tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt thời gian đào tạo, thực hiện và hoàn thành luận án;

Xin chân thành cảm ơn Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup - VINIF

đã hỗ trợ cho tôi một phần kinh phí trong quá trình thực hiện luận án;

Xin trân trọng cảm ơn **GS. TS. Nguyễn Cửu Khoa, PGS. TS. Trần Ngọc Quyên** – Viện trưởng Viện Khoa học Vật liệu Ứng dụng, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

là những người đã luôn quan tâm, chia sẻ và tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận án này;

Xin chân thành cảm ơn Quý Đồng nghiệp, học trò trong nhóm nghiên cứu Plasma ứng dụng trong Nông nghiệp và Đời sống của Phòng Vật liệu Nano và Kỹ thuật Vật lý

đã đồng hành cùng tôi trong quá trình nghiên cứu, thực hiện đề tài;

Đặc biệt, xin trân trọng dành sự biết ơn đến hai Gia đình lớn của tôi gồm Ba Má, Các Anh, Chị, Em...

đã luôn quan tâm và san sẻ cùng tôi trong mọi mặt...

Hơn hết, là lời cảm ơn chân thành đến Vợ **Văn Thủy Quý Hoa** và con trai **Thân Đăng Huy**

đã là nguồn động viên lo lớn cho tôi đi đến cuối con đường học tập.

Một lần nữa, xin chân thành cảm ơn!

Thành phố Hồ Chí Minh, tháng 08 năm 2023

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 ₂ O ₂	: Hydrogen peroxide
He	: Helium
K	: Potassium
MAPK	: Mitogen Activated Protein Kinase.
MHA	: Mueller Hinton Agar
mRNA	: Messenger Ribonucleic Acid
MIC	: Minimum Inhibitory Concentration
NTP	: Non-thermal Plasma
N	: Nitrogen
O ₂	: Oxygen
OES	: Optical emission spectroscopy
OPDA	: Oxo-phytodienoic acid
ORP	: Oxidation-Reduction Potentia
PAW	: Plasma Activated Water
PDA	: Potato Dextrose Agar

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	57
<i>Bảng 3.2.</i> Kết quả bán kính vòng kháng khuẩn của PAW ở thời gian khác nhau ..	101
<i>Bảng 3.3.</i> Kết quả bán kính vòng kháng nấm của PAW ở thời gian khác nhau.....	103

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 (A) <i>Xanthomonas</i> spp. và (B) <i>Fusarium</i> spp.	32
<i>Hình 2.1.</i> Hình ảnh một số thiết bị tiêu biểu	35
<i>Hình 2.2.</i> Sơ đồ thiết lập hệ thống plasma corona	36
<i>Hình 2.3.</i> Sơ đồ thiết lập hệ thống plasma DBD.....	37
<i>Hình 2.4.</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	38
<i>Hình 3.1.</i> Đặc trưng điện áp và dòng điện của hệ phóng plasma lạnh được sử dụng	47
<i>Hình 3.2.</i> Công suất tức thời và năng lượng của hệ plasma lạnh được sử dụng.....	48
<i>Hình 3.3.</i> Giá trị pH của PAW với kiểu phóng và thời gian xử lý khác nhau cho đơn khí.....	49
<i>Hình 3.4.</i> Giá trị pH của PAW với kiểu phóng và thời gian xử lý khác nhau cho hỗn hợp khí.....	50
<i>Hình 3.5.</i> Đường cong Friedrich Paschen cho một số khí	51
<i>Hình 3.6.</i> Nồng độ EC của PAW theo thời gian cho đơn khí	52

<i>Hình 3.7.</i> Nồng độ EC của PAW theo thời gian cho hỗn hợp khí	53
<i>Hình 3.8.</i> Nồng độ NO_3^- của PAW theo thời gian cho đơn khí	54
<i>Hình 3.9.</i> Nồng độ NO_3^- của PAW theo thời gian cho hỗn hợp khí	54
<i>Hình 3.10.</i> Nồng độ NO_2^- của PAW theo thời gian cho đơn khí.....	55
<i>Hình 3.11.</i> Nồng độ NO_2^- của PAW theo thời gian cho hỗn hợp khí	56
<i>Hình 3.12.</i> Nồng độ H_2O_2 của PAW theo thời gian cho đơn khí.....	56
<i>Hình 3.13.</i> Nồng độ H_2O_2 của PAW theo thời gian cho hỗn hợp khí.....	57
<i>Hình 3.14.</i> Chiều dài phôi và trọng lượng nghìn hạt trong các mẫu xử lý H_2O_2 ở các hàm lượng khác nhau	59
<i>Hình 3.15.</i> Ảnh chiều dài phôi của các mẫu với hàm lượng H_2O_2 khác nhau sau 24 giờ.....	60
<i>Hình 3.16.</i> Tỷ lệ nảy mầm hạt trong các mẫu xử lý H_2O_2 ở các nồng độ khác nhau.	61
<i>Hình 3.17.</i> Ảnh chụp khả năng nảy mầm của mẫu 10 ppm H_2O_2 sau 5 ngày	61
<i>Hình 3.18.</i> Giá trị chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 5 ngày ở các hàm lượng H_2O_2 khác nhau.	62
<i>Hình 3.19.</i> Ảnh chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 5 ngày ở các hàm lượng H_2O_2 khác nhau.	63
<i>Hình 3.20.</i> Tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi của các mẫu xử lý H_2O_2 ở các hàm lượng khác nhau.....	63
<i>Hình 3.21.</i> Nồng độ diệp lục của các mẫu xử lý H_2O_2 ở các hàm lượng khác nhau	64
<i>Hình 3.22.</i> Kết quả kháng <i>Xanthomonas</i> spp. của H_2O_2 ở các hàm lượng 0 đến 3.000 ppm sau 24h	65
<i>Hình 3.23.</i> Kết quả kháng <i>Fusarium</i> spp. của H_2O_2 ở các hàm lượng 50 ppm, 200 ppm, 1.000 ppm, sau 24h	66
<i>Hình 3.24:</i> Trọng lượng nghìn hạt và chiều dài phôi khi bổ sung các khoáng chất ở hàm lượng khác nhau	67

<i>Hình 3.25.</i> Ảnh chiều dài phôi khi bổ sung hàm lượng N từ 0 ppm đến 200 ppm sau 24 giờ.....	67
<i>Hình 3.26.</i> Ảnh chiều dài phôi khi bổ sung hàm lượng P từ 0 ppm đến 200 ppm sau 24 giờ.....	68
<i>Hình 3.27.</i> Ảnh chiều dài phôi khi bổ sung hàm lượng K từ 0 ppm đến 200 ppm sau 24 giờ.....	68
<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	68
<i>Hình 3.29.</i> Tỷ lệ nảy mầm hạt trong các mẫu bổ sung N ở các hàm lượng trong 3 ngày	69
<i>Hình 3.30.</i> Giá trị chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 7 ngày ở các hàm lượng N	72
<i>Hình 3.31.</i> Ảnh chụp chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 5 ngày ở các hàm lượng N.....	72
<i>Hình 3.32.</i> Ảnh chụp chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 5 ngày ở các hàm lượng P	73
<i>Hình 3.33.</i> Ảnh chụp chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 5 ngày ở các hàm lượng K.....	74
<i>Hình 3.34.</i> Giá trị diện tích lá và hàm lượng chlorophyll khi bổ sung các khoáng chất ở hàm lượng khác nhau	74
<i>Hình 3.35.</i> Ảnh chụp sự phát triển lá của xà lách xoăn sau 7 ngày ở các hàm lượng N	75
<i>Hình 3.36.</i> Ảnh chụp sự phát triển lá của xà lách xoăn sau 7 ngày ở các hàm lượng P	75
<i>Hình 3.37.</i> Ảnh chụp sự phát triển lá của xà lách xoăn sau 7 ngày ở các hàm lượng K.....	76

<i>Hình 3.38.</i> Tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi của các mẫu xử lý N ở các hàm lượng khác nhau	77
<i>Hình 3.39.</i> 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.	79
<i>Hình 3.40.</i> 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.	80
<i>Hình 3.41.</i> 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.	81
<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.	81
<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	83
<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	83
<i>Hình 3.45.</i> 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.....	85
<i>Hình 3.46.</i> Ảnh SEM của bề mặt hạt sau 2 giờ ngâm với nước cất (CTRL), PAW-15 và PAW-30.....	87
<i>Hình 3.47.</i> Ảnh soi nổi của hạt được ngâm bằng PAW-15 từ 0 giờ đến 48 giờ.	87
<i>Hình 3.48.</i> Chiều cao thân và chiều dài rễ của xà lách xoăn dưới tác động PAW ở các thời gian khác nhau	88
<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.....	89
<i>Hình 3.50.</i> 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.....	91

- 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.....92
- 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.....92
- Hình 3.53.* 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.....92
- Hình 3.54.* 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.....94
- Hình 3.55.* Ảnh hưởng của PAW đối với diện tích lá của xà lách xoăn.95
- Hình 3.56.* 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.....96
- Hình 3.57.* 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.....97
- Hình 3.58.* 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.....97
- Hình 3.59.* 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.....97
- Hình 3.60.* 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 plasma98
- Hình 3.61.* Tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi của xà lách xoăn dưới tác động của các mẫu PAW có bổ sung khoáng chất99
- Hình 3.62.* Ảnh chụp các đĩa thạch có chứa mẫu đối chứng và các mẫu PAW ở thời gian khác nhau với *Xanthomonas* spp..... 101
- Hình 3.63.* Ảnh chụp các đĩa thạch có chứa mẫu đối chứng và các mẫu PAW ở thời gian khác nhau với *Fusarium* spp 102

MỞ ĐẦU

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan về nước hoạt hóa plasma cho cây trồng	3
1.1.1. Khái niệm	3
1.1.2. Tính chất – Đặc trưng của PAW	5
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. Nồng độ các ion nitrite (NO_2^-) và nitrate (NO_3^-)	7
1.1.3. Ứng dụng của PAW trong nông nghiệp	7
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
1.2. Tình hình nghiên cứu về nước hoạt hóa plasma cho cây trồng	11
1.2.1. Tình hình nghiên cứu ngoài nước	11
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
1.2.2. Tình hình nghiên cứu trong nước	13
1.3. Vai trò của chất oxi hóa và khoáng đa lượng cho cây trồng.....	14
1.3.1. Quá trình nảy mầm.....	14
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

1.3.2. Quá trình sinh trưởng	19
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
1.3.3. Vai trò của H_2O_2.....	24
1.3.4. Vai trò của nguyên tố đa lượng N, P, K	24
1.4. Tổng quan về <i>Lactuca sativa</i> L.....	28
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

2.1. Hóa chất, nguyên liệu, dụng cụ, thiết bị thực nghiệm	33
2.1.1 Hóa chất, nguyên liệu	33
2.1.2. Thiết bị - Dụng cụ.....	34
2.2. Xây dựng hệ phát plasma theo 2 kiểu phóng và đặc trưng điện học của chúng	35
2.2.1. Nguồn phát plasma.....	35
2.2.2. Hệ phát plasma kiểu phóng trực tiếp (corona)	35
2.2.3. Hệ phát plasma kiểu phóng gián tiếp qua lớp điện môi	36
2.2.4. Đặc trưng điện học của hệ thống phát plasma	37
2.2.4.1 Giới thiệu chung.....	37
2.2.4.2. Phương pháp đo đặc trưng điện của hệ phát plasma	38
2.3. Chế tạo và khảo sát các đặc trưng lý hóa của các mẫu PAW	38

2.3.1. Kiểu phóng DBD.....	38
2.3.2. Kiểu phóng Corona	39
2.3.3. Khảo sát đặc trưng lý hóa của các mẫu PAW.....	39
2.3.3.1. Giá trị pH.....	39
2.3.3.2. Độ dẫn điện.....	39
2.3.3.3. Nồng độ ion NO_2^- , NO_3^-	39
2.3.3.4. Nồng độ H_2O_2	39
2.3.3.5. Nồng độ O_3	39
2.3.3.6. Nhiệt độ.....	39
2.4. Chế tạo các mẫu chứa H_2O_2, N, P, K, PAW và PAW kết hợp N, P, K	40
2.5. Thông số đánh giá quá trình nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn sớm của xà lách xoăn	40
2.5.1. Thông số đánh giá quá trình nảy mầm	40
2.5.1.1. Trọng lượng nghìn hạt.....	41
2.5.1.2. Chiều dài phôi.....	41
2.5.1.3. Tỷ lệ nảy mầm hạt	41
2.5.2. Thông số đánh giá quá trình sinh trưởng giai đoạn sớm	42
2.5.2.1. Chiều cao thân và chiều dài rễ.....	42
2.5.2.2. Hàm lượng diệp lục (Chlorophyll).....	42
2.5.2.3. Tỷ lệ trọng lượng tươi/ khô.....	43
2.5.2.4. Diện tích lá.....	43
2.5.2.5. Ảnh hình thái.....	44
2.6. Khảo sát ảnh hưởng của H_2O_2, N, P, K đối với quá trình nảy mầm và sinh trưởng ban đầu của xà lách xoăn.....	44

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	44
2.8. Khảo sát khả năng kháng khuẩn, kháng nấm.....	45
2.8.1. Phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)	45
2.8.2. Phương pháp đo đường kính vòng kháng khuẩn.....	45
2.9. Tính toán và xử lý số liệu.....	46

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá về đặc trưng điện học của hệ plasma	47
3.2. Mối quan hệ giữa tính chất lý hóa của mẫu nước và kiểu phóng.....	48
3.2.1. Giá trị pH	48
3.2.2. Nồng độ EC và nhiệt độ	51
3.2.3. Các ion NO_3^-, NO_2^-, H_2O_2, O_3.....	53
3.3. Cơ sở lựa chọn các mẫu PAW định hướng ứng dụng cho nghiên cứu	58
3.4. Khảo sát ảnh hưởng của H_2O_2, N, P, K đối với quá trình nảy mầm và sinh trưởng.....	59
3.4.1. Ảnh hưởng của chất oxi hóa H_2O_2.....	59
3.4.1.1. Quá trình nảy mầm	59
3.4.1.2. Quá trình sinh trưởng giai đoạn đầu.....	62
3.4.1.3. Khả năng kháng khuẩn và nấm.....	65
3.4.2. Ảnh hưởng của các khoáng đa lượng N, P, K đến quá trình nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn sớm	66
3.4.2.1. Quá trình nảy mầm	66
3.4.2.2. Quá trình sinh trưởng giai đoạn đầu	71
3.4.2.3. Nhận xét chung	77

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.....	78
3.5.1. Quá trình nảy mầm.....	78
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.....	78
3.5.1.2. Ảnh hưởng của PAW và PAW kết hợp khoáng đa lượng N, P, K cho tốc độ nảy mầm	82
3.5.1.3. Ảnh hưởng của PAW đến sự thay đổi hình thái của hạt	86
3.5.2. Quá trình sinh trưởng giai đoạn đầu của hạt.....	88
3.5.2.1. Sự phát triển chiều cao thân - chiều dài rễ của cây	88
3.5.2.2. Diện tích lá và hàm lượng diệp lục.....	93
3.5.2.3. Tỷ lệ trọng lượng tươi/ khô.....	97
3.5.3. Nhận xét chung	100
3.5.4. Khả năng kháng khuẩn - kháng nấm của PAW.....	100
3.5.4.1. Kháng khuẩn	100
3.5.4.2. Kháng nấm.....	102

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận	105
Kiến nghị.....	106
Những đóng góp mới của luận án.....	107

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 tỉ 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, tỉ lệ nảy mầm của chúng như chiếu xạ, tia UV, plasma... Trong đó, công nghệ plasma lạnh 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 H₂O₂ 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

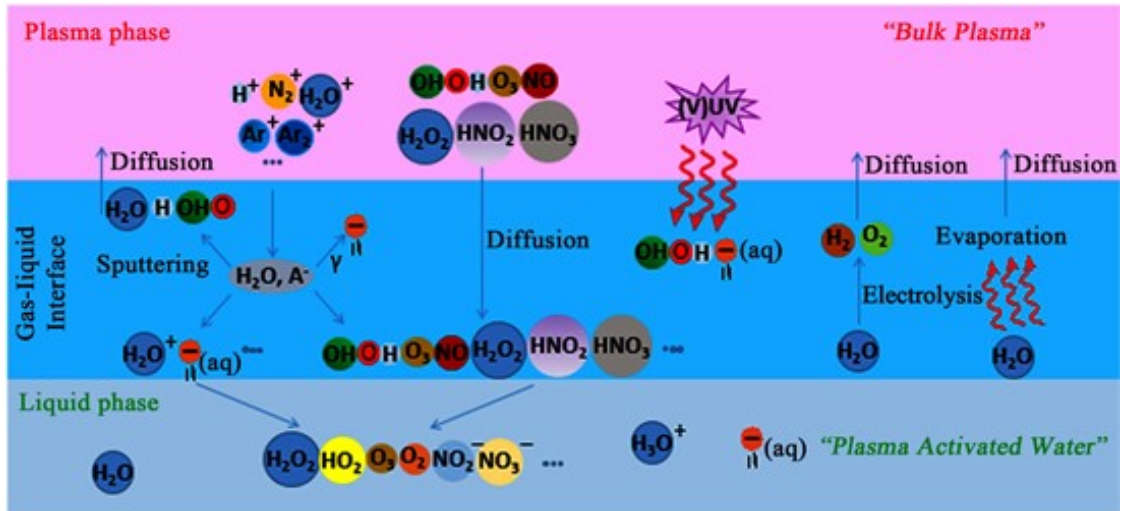
Vật chất thông thường tồn tại ở ba dạng, đó là rắn, lỏng, khí. Plasma thường được gọi là "trạng thái thứ tư của vật chất". Trong trạng thái này, vật chất thông thường tồn tại ở dạng ion hóa, các electron tự do, các nguyên tử và phân tử trung tính [1]. Trong tự nhiên, hiện tượng plasma thường có trong 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

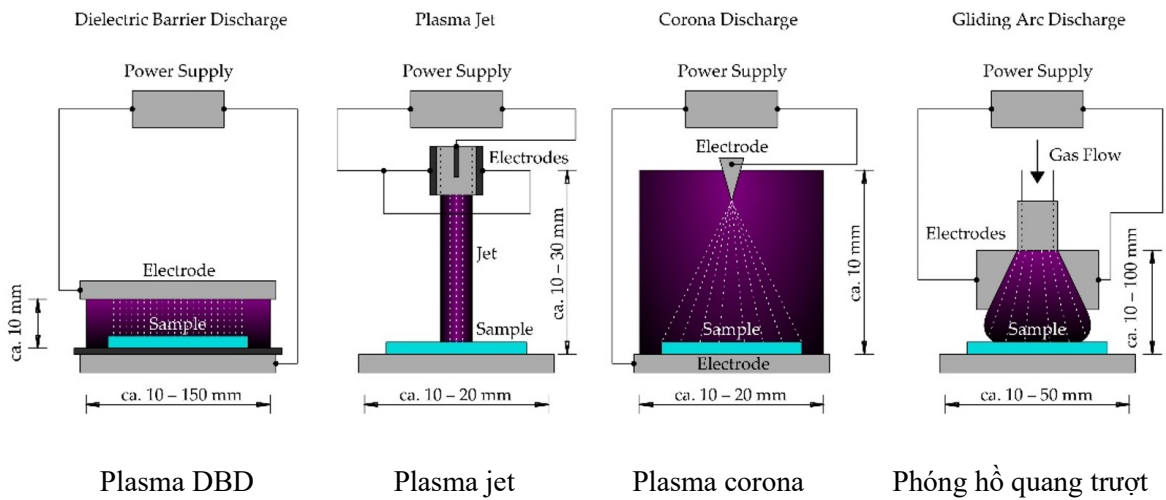
các ứng dụng rộng rãi như y sinh, môi trường, khoa học nano và nông nghiệp [1,3,4]. Trong nông nghiệp, khí plasma thường được dùng để tác động lên hạt nhằm tăng cường khả năng nảy mầm, nước plasma thường được tận dụng bởi quá trình thẩm thấu hạt nhằm điều khiển kể cả quá trình sinh trưởng của hạt và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

(Nguồn: H. Zeghioud, [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 peroxyntrous 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 NO_x khi phun nước trực tiếp vào vùng plasma [10, 11]. Độ dẫn điện thường được đo bằng micromhos trên cm hoặc microsiemens (μS) trên cm và độ dẫn của nước cất thay đổi trong khoảng từ 0,5 đến 3 μS/cm. Nghiên cứu của cho thấy độ dẫn điện của nước cất là 30 μS/cm khi kích hoạt bằng plasma với hỗn hợp khí Ar/O₂ chỉ trong 5 phút, trong khi nước chưa qua xử lý có độ dẫn là 1,61 μS/cm [6]. Trong một nghiên cứu khác, PAW được tạo ra khi sử dụng khí đầu vào là He thêm 0.2% N₂, đã cho thấy sự gia tăng tuyến tính về độ dẫn điện từ 286 μS/cm đến 790 μS/cm (sau 10 phút xử lý); đối với khí đầu vào là He thêm 0.2% O₂, giá trị độ dẫn điện cũng gia tăng tuyến tính v từ 496 đến 995 μS/cm μS/cm (sau 10 phút xử lý) [12].

1.1.2.3. *Hydro peroxide*

H₂O₂ 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 H₂O₂ và tầm quan trọng của nó đối với việc kháng khuẩn của PAW. Trong môi trường acid, nồng độ H₂O₂ 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 H₂O₂ và do đó H₂O₂ được tạo thành trong pha khí sẽ được vận chuyển đến các chất lỏng [14]. Trong các nghiên cứu khác, nồng độ của H₂O₂ hình thành trong PAW được ước tính là 22,4 μM sau 20 phút kích hoạt plasma với không khí [9]. Nồng độ của H₂O₂ phụ thuộc vào độ dẫn điện của nước sau khi phóng điện. Tuy nhiên, H₂O₂ 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 H₂O₂ trong PAW tại các thời điểm khác nhau: Sau 25 phút kích hoạt, nồng độ H₂O₂ giảm xuống còn khoảng 110 μM. 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 (NO₂⁻) và nitrate (NO₃⁻)*

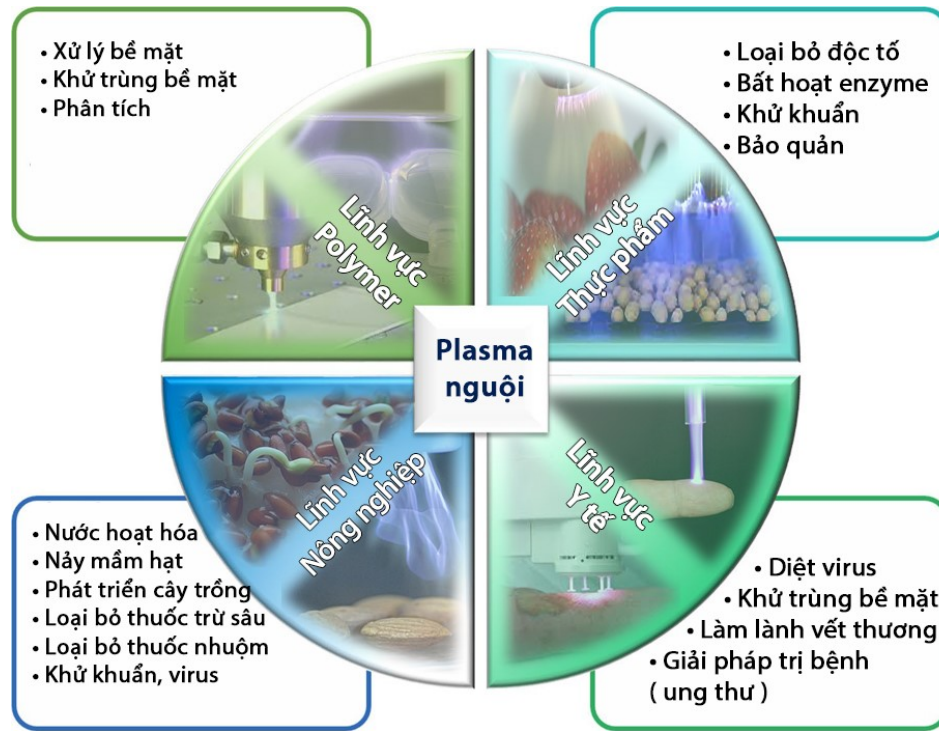
Việc phát hiện các ion nitrite và nitrate trong PAW là bằng chứng chính cho sự hình thành RNS và nhiều nhà nghiên cứu đã quan tâm đến việc diệt vi sinh vật trong những năm gần đây. Các ion nitrate tồn tại lâu dài trong PAW được hình thành như các sản phẩm thứ cấp và diệt vi khuẩn trong quá trình bảo quản. Các phản ứng sau phóng điện giữa NO₂⁻ và H₂O₂ xảy ra trong PAW dẫn đến sự hình thành peroxy nitrite có đặc tính diệt vi khuẩn đáng kể. Giống như ROS, nồng độ NO₃⁻ và NO₂⁻ giảm khi tăng thời gian bảo quản [9, 13]. Các nitrite oxide được hình thành thông qua sự phân ly của N₂ và O₂ 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 H₂O₂ 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/O₂ 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, tỉ lệ nảy mầm là 40% cho mẫu đối chứng và tỉ 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 tỉ 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%.

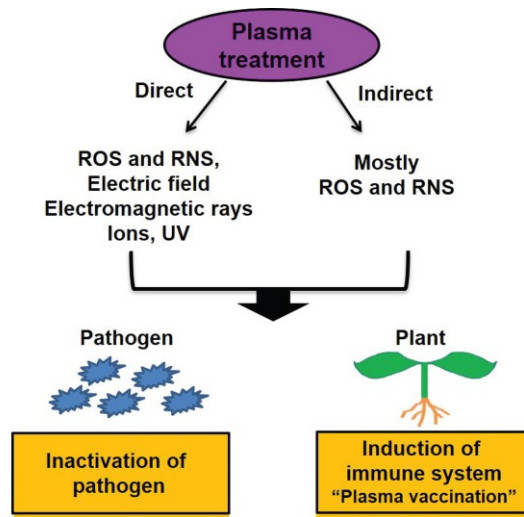
1.1.3.2. PAW thúc đẩy sự phát triển của thực vật

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 H₂O₂ 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 tỉ 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, tỉ 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 tỉ 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 tỉ 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 tỉ lệ nảy mầm bằng cách phá vỡ sự ngủ đông của hạt. Sự hiện diện của H₂O₂ 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 tỉ 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, khống 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 xạ lách xoắn 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

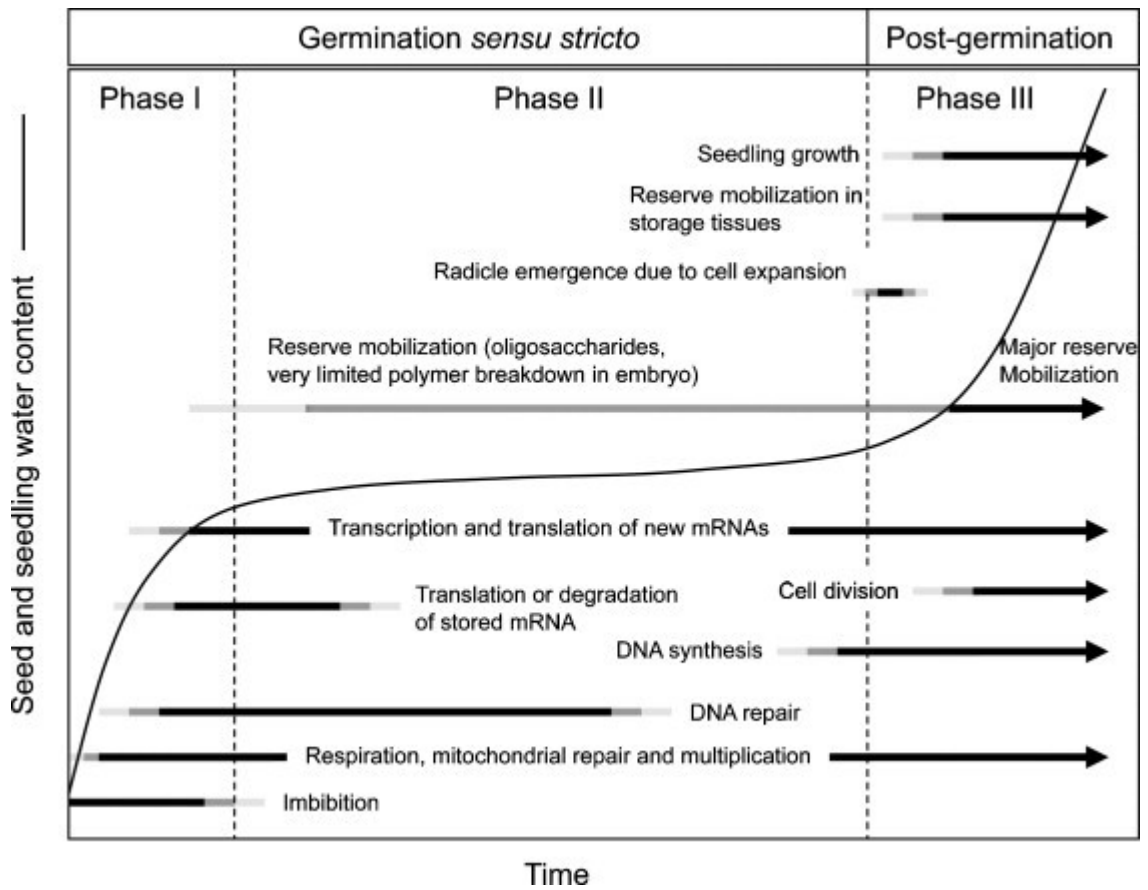
1.3.1. Quá trình nảy mầm

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 tỉ 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 α -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 nhô 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 tỉ 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

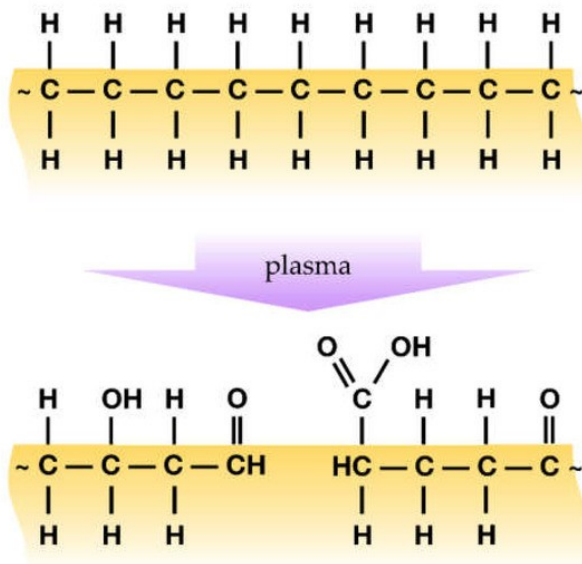
Để đánh giá khả năng thấm ướt của bề mặt hạt, cần đánh giá thành phần hóa học của lớp vỏ hạt. Lớp ngoài của cấu trúc hạt là vỏ hạt (testa), là lớp tế bào chết có khả năng bảo vệ [44]. Ngoài ra, lớp vỏ hạt của nhiều loài thực vật được bao phủ bởi một lớp cutin, đây là lớp sáp kỵ nước bảo vệ hạt và kiểm 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 tỉ 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 N₂, 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 tỉ 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 tỉ 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 O₂, Heli và N₂.

- 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 H₂O₂

H₂O₂ 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 H₂O₂ 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 H₂O₂ 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, H₂O₂ 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 H₂O₂ trong tế bào thực vật thậm chí còn rất quan trọng. Các nghiên cứu trên cho thấy vai trò của H₂O₂ 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 H₂O₂ ngoại sinh làm tăng sự nảy mầm của hạt đậu, cũng như sự phát triển của cây con do H₂O₂ 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 H₂O₂ oxy hóa có trong vỏ hạt giúp thúc hạt nảy mầm nhanh hơn, H₂O₂ 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. H₂O₂ 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 (NO_3^-) và dạng amoniac (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 (NO_3^-) hoặc amoni (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 xoăn 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, β -carotene, α -tocopherol và phyloquinone) 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 lỏng lẻo, ít nhồi hơn. Lá thường có màu rất sặc sỡ: 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 nhọn 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 β - 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, CaCl₂, H₂O₂ 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* spp. và *Fusarium* spp. [88, 94, 95]. Chúng 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* spp. 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* spp. 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.



(A)

(B)

Hình 1.8. Biểu hiện bệnh trên xà lách do (A) *Xanthomonas* spp.
và (B) *Fusarium* spp.

(Nguồn: [94,95])

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	Hãng cung cấp	Độ tinh khiết
1	Calcium phosphate monobasic	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	Sigma-Adrich	> 95%
2	Potassium sulfate	K_2SO_4	Sigma-Adrich	> 99%
3	Ammonium nitrate	NH_4NO_3	Sigma-Adrich	> 98%
4	Hydrogen peroxide solution	H_2O_2	Sigma-Adrich	> 34%
5	Nước cất 2 lần được cung cấp từ Trung tâm Phân tích – Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng.	H_2O		
6	Bình khí nitrogen	N_2	Sovigaz	99,99%
7	Bình khí oxygen	O_2	Sovigaz	99,99%
8	Bình air		Sovigaz	99,99%
9	Bình khí argon	Ar	Sovigaz	99,99%

Các nguyên liệu được sử dụng bao gồm:

Hạt xà lách xoăn (Tên khoa học: *Lactuca sativa* L.) được thu thập, chọn lựa các hạt đồng đều, không lép, màu nâu đến nâu đen trong nông trại ở Quận Cái Răng, Tỉnh Cần Thơ, Việt Nam. Sau đó hạt được bảo quản trong trong lọ thủy tinh tối màu, có gói hút ẩm, đặt 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 Instrments 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 gắp, giấy lọc, pipette...	
16	Các bộ kit phân tích chỉ tiêu hóa lý	

	của nước hoạt hóa plasma: NO_3^- Sera test kit, Đức; H_2O_2 , Hanna Instruments HI3844 test kit, Romania; O_3 , Hanna Instruments HI38054 test kit, Romania...	
--	--	--

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



Hình 2.1. Hình ảnh một số thiết bị tiêu biểu

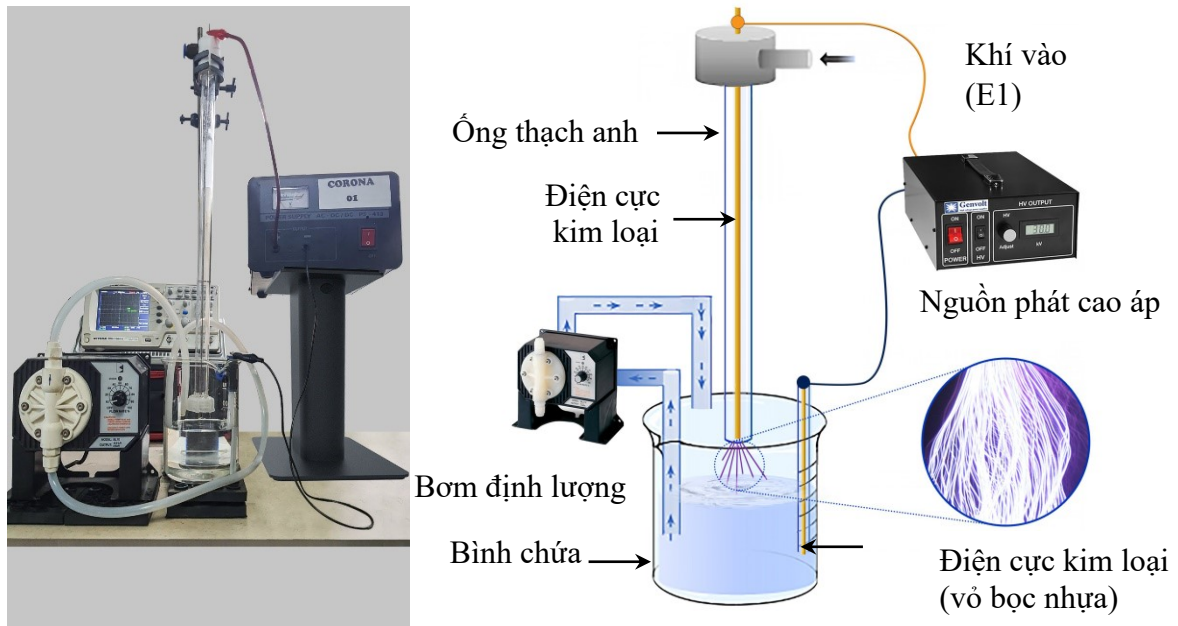
2.2. Xây dựng hệ phát plasma theo 2 kiểu phóng và đặc trưng điện học của chúng

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:

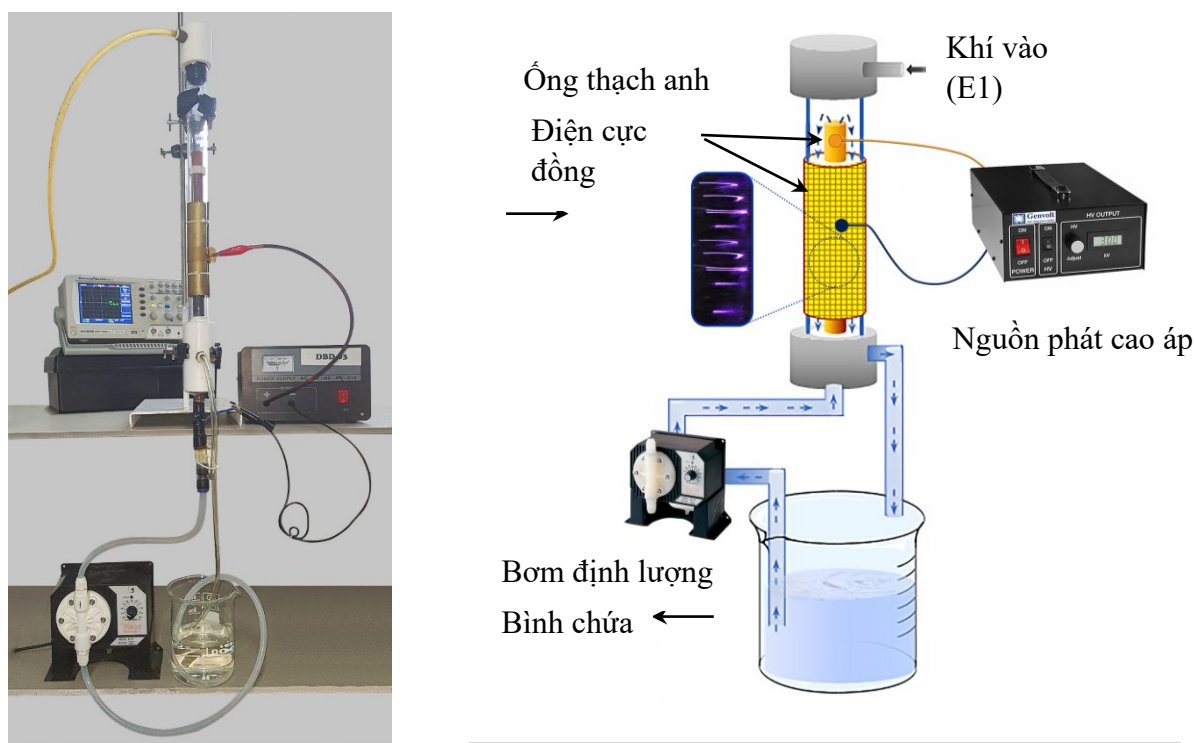


Hình 2.2. Sơ đồ thiết lập hệ thống plasma corona

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, N₂, O₂ 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, N₂, O₂ 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

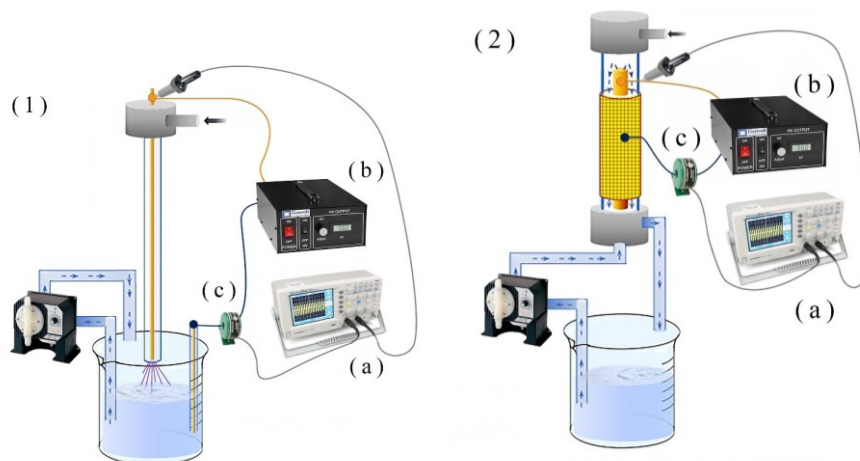
Hệ thống phát plasma là một thiết bị điện đặc biệt, đặc trưng bởi điện áp cao, dòng điện thấp và tần số thay đổi theo yêu cầu sử dụng. Công suất phóng điện, là

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), nhiệt độ, ion NO_2^- , ion NO_3^- , H_2O_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 NO_2^- , 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 (NO_3^- Sera test kit, Đức).

2.3.3.4. Nồng độ H_2O_2

Nồng độ H_2O_2 được xác định bằng phương pháp chuẩn (Hanna Instruments HI-3844 test kit, Romania).

2.3.3.5. Nồng độ O_3 hòa tan

Nồng độ O_3 hòa tan được xác định bằng phương pháp chuẩn (Hanna Instruments HI-38054 test kit, Romania).

2.3.3.6. Nhiệt độ

Giá trị nhiệt độ được đo bằng thiết bị HI-99130 (Hanna Instruments HI991300, Romania).

2.4. Chế tạo các mẫu chứa H₂O₂, N, P, K, PAW và PAW kết hợp N, P, K

Chế tạo mẫu H₂O₂: Trong mỗi thí nghiệm ảnh hưởng của H₂O₂, một lượng H₂O₂ được tính toán với hàm lượng thay đổi từ 0 ppm đến 50 ppm pha trong nước cất, 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 H₂O₂ và hàm lượng đi kèm, ví dụ: H10, với “H” là H₂O₂, “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 cất, 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 cất 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 có hàm lượng từ 0 ppm đến 200 ppm, dùng để ngâm và bổ sung 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 cất. 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

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, 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 xoăn 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/m²) 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 °C ± 2 °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:

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

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/ m²). 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 A₆₆₂ và A₆₄₅ là độ hấp thụ của các giá trị diệp lục được đo tương ứng ở 662 nm và 645 nm.

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

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

Tổng hàm lượng diệp 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 diệp 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 tích:

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

Trong đó:

- 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 H₂O₂, 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 H₂O₂ và khoáng chất N, P, K với các hàm lượng chọn lựa, các thông số: Trọng lượng nghìn hạt, chiều dài phôi, tỉ 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 H₂O₂ và khoáng chất N, P, K với các hàm lượng chọn lựa, các thông số: Chiều cao thân và chiều dài rễ, diện tích, tỉ 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, tỉ 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, tỉ 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 [182]. Các chủng vi sinh được sử dụng từ nguồn chủng của Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng, môi trường nuôi cấy MHA (Mueller Hinton Agar) cho *Xanthomonas* spp. và PDA (Potato Dextrose Agar) cho *Fusarium* spp. Điều kiện nuôi cấy: Ủ cố định trong tủ ấm 32°C, thời gian 24 – 48 giờ.

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* sp. 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 PAW 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, 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 (ΔD) 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)

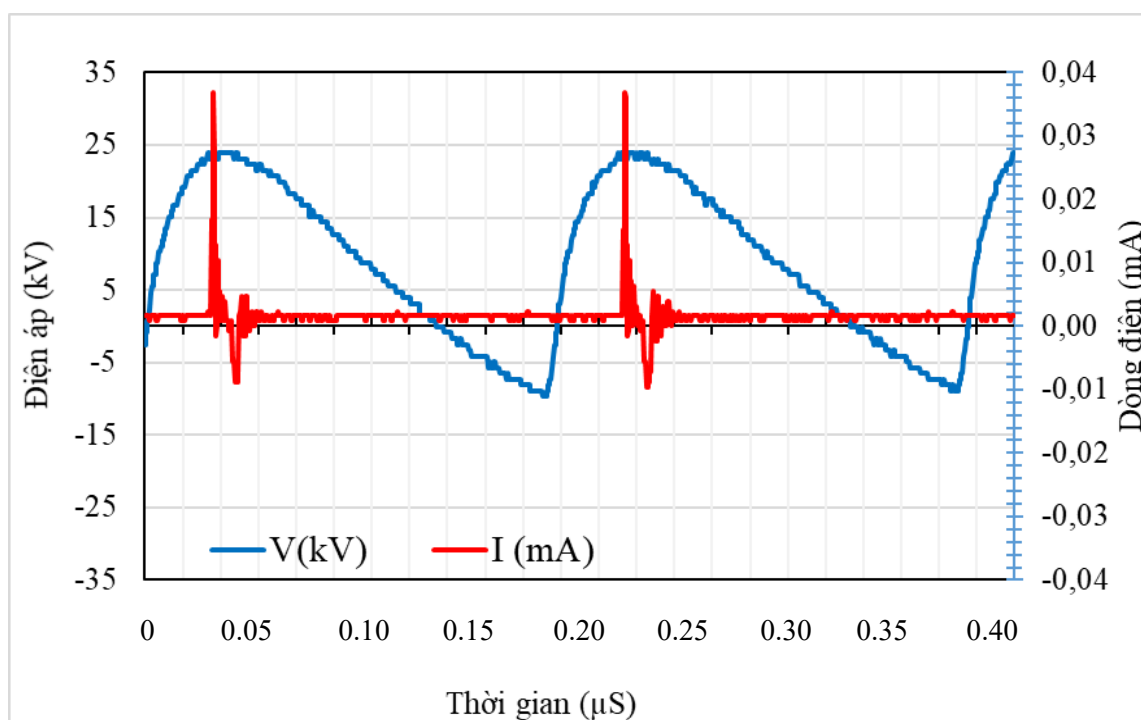
2.9. Tính toán và xử lý số liệu

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 4 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

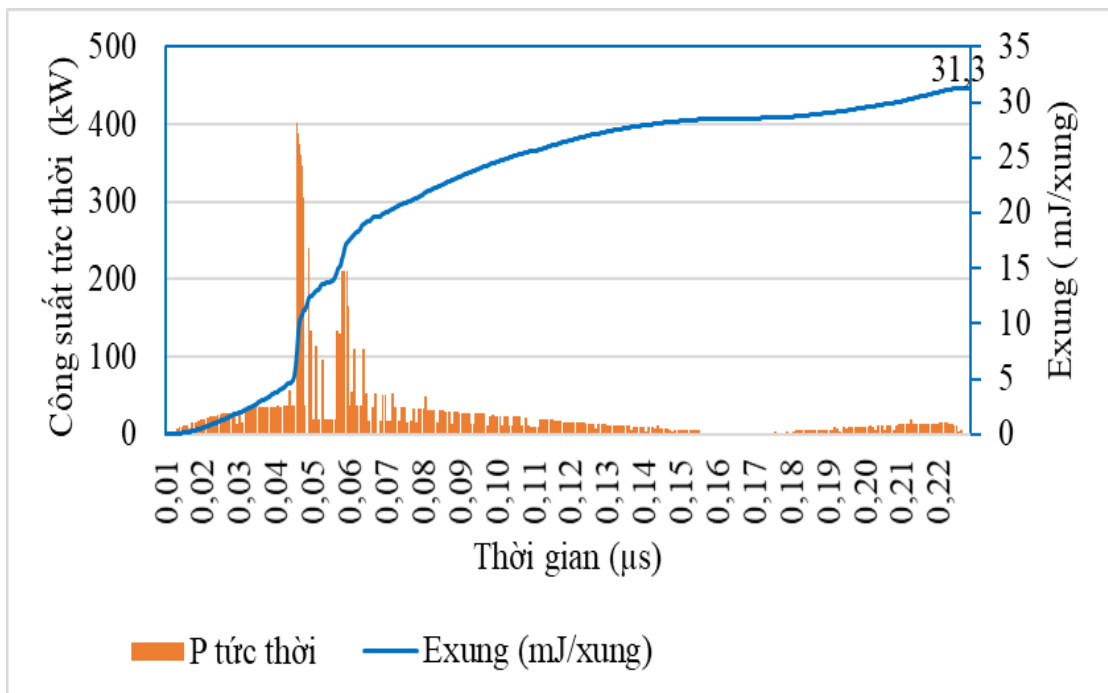
Trong luận án này, hệ thống phát plasma bao gồm hai phần: Lò phản ứng (reactor) và nguồn phát cung cấp plasma với điện áp cố định là 24 kV, tần số 1,5 kHz. Với hệ trên, đặc trưng điện học của plasma được đánh giá bằng cách phân tích trên máy hiện sóng theo dõi quá trình phóng plasma trên reactor theo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



Hình 3.1. 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. Công suất tức thời và năng lượng của hệ 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.

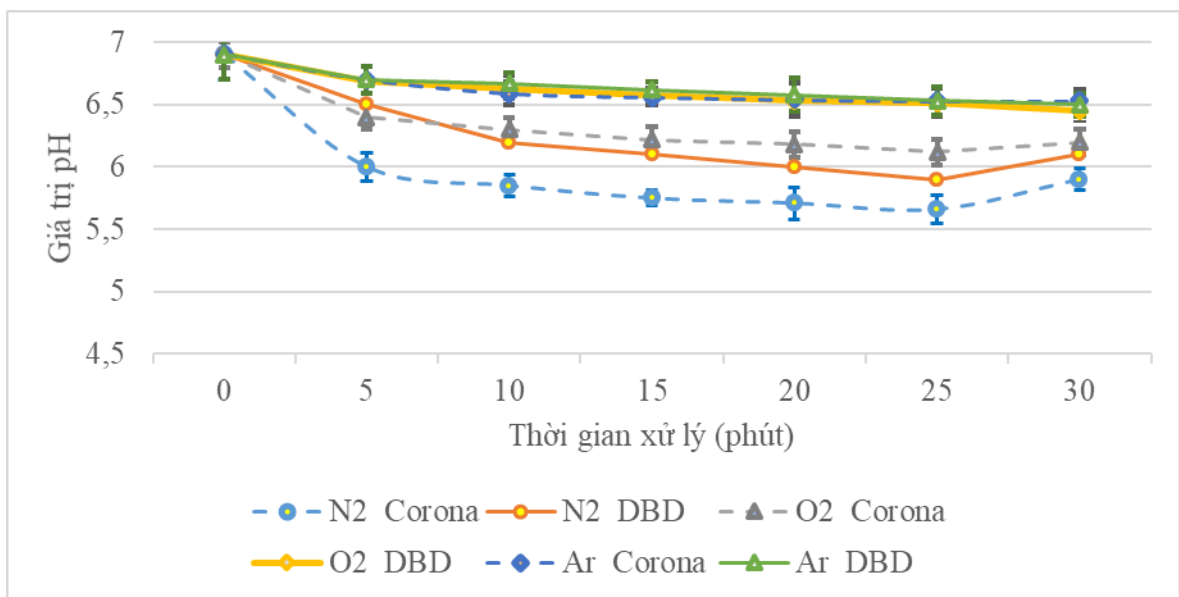
3.2. Môi quan hệ giữa tính chất lý hóa của mẫu nước và kiểu phóng

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 O₂ 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].



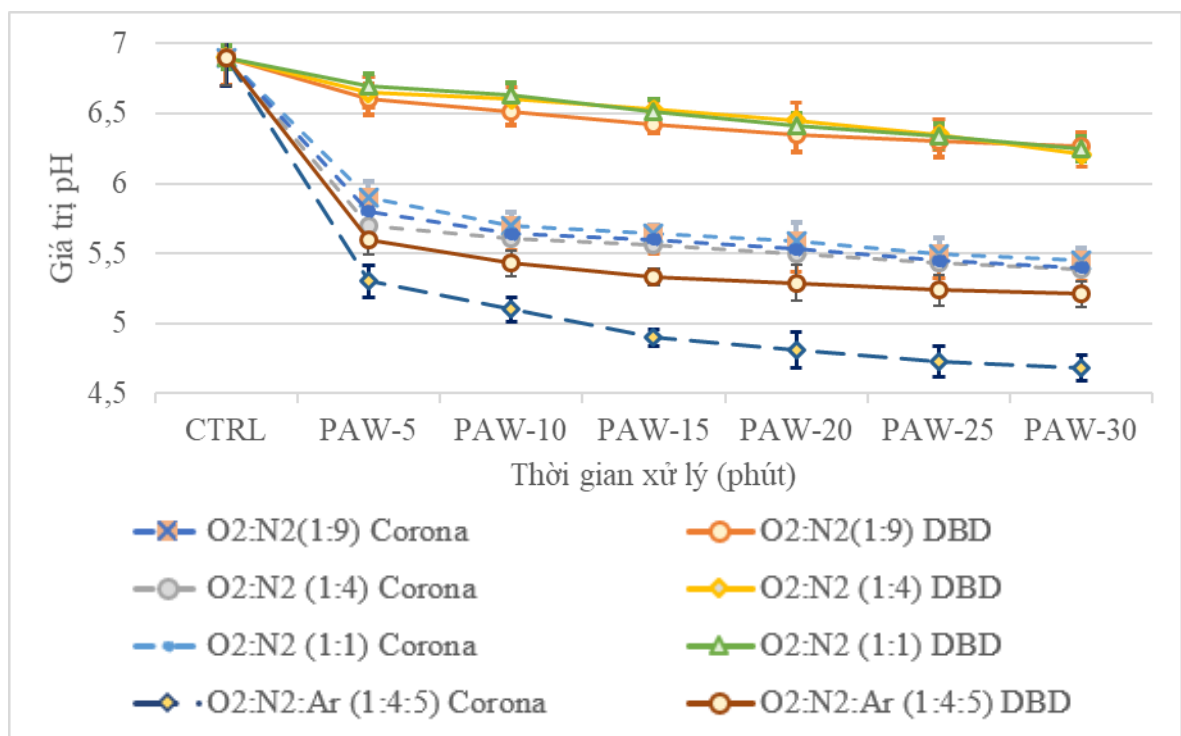
Hình 3.3. Giá trị pH của PAW với kiểu phóng và thời gian xử lý khác nhau cho đơn khí

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 O₂ 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.

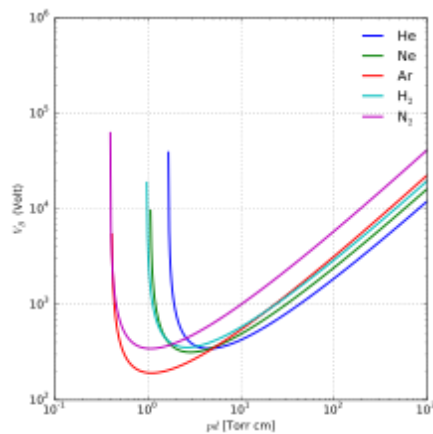


Hình 3.4. Giá trị pH của PAW với kiểu phóng và thời gian xử lý khác nhau cho hỗn hợp khí

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 tỉ 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

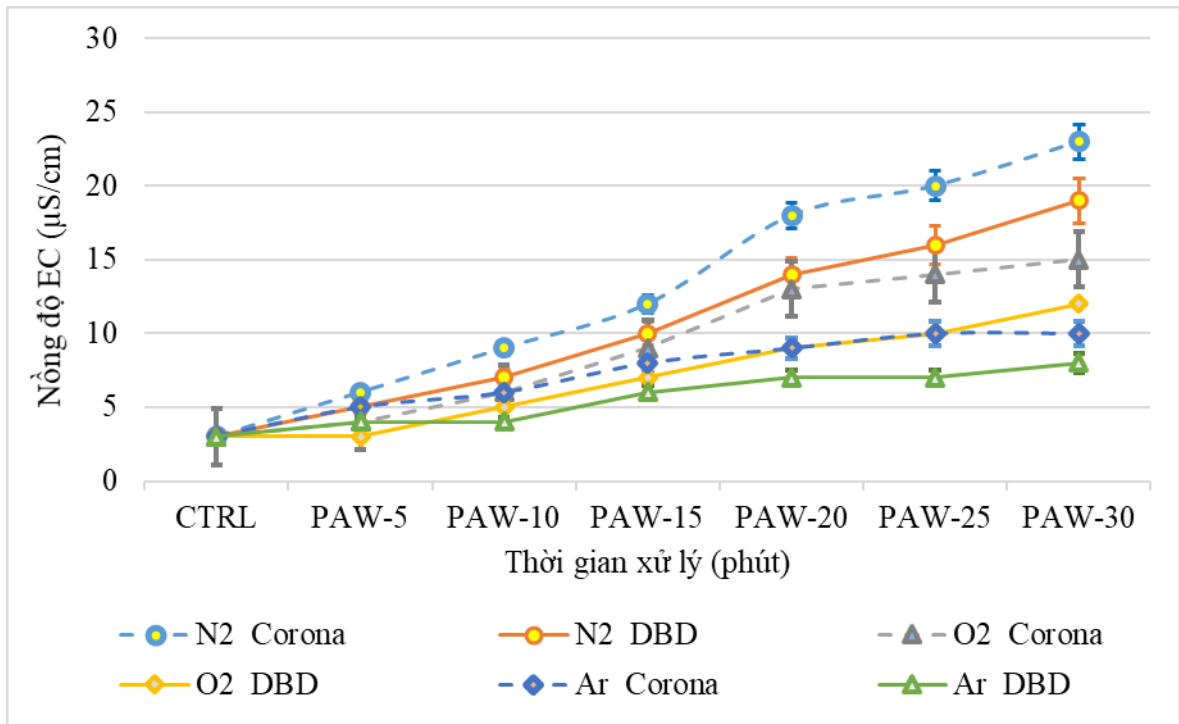
(Nguồn: S. Das, [103])

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

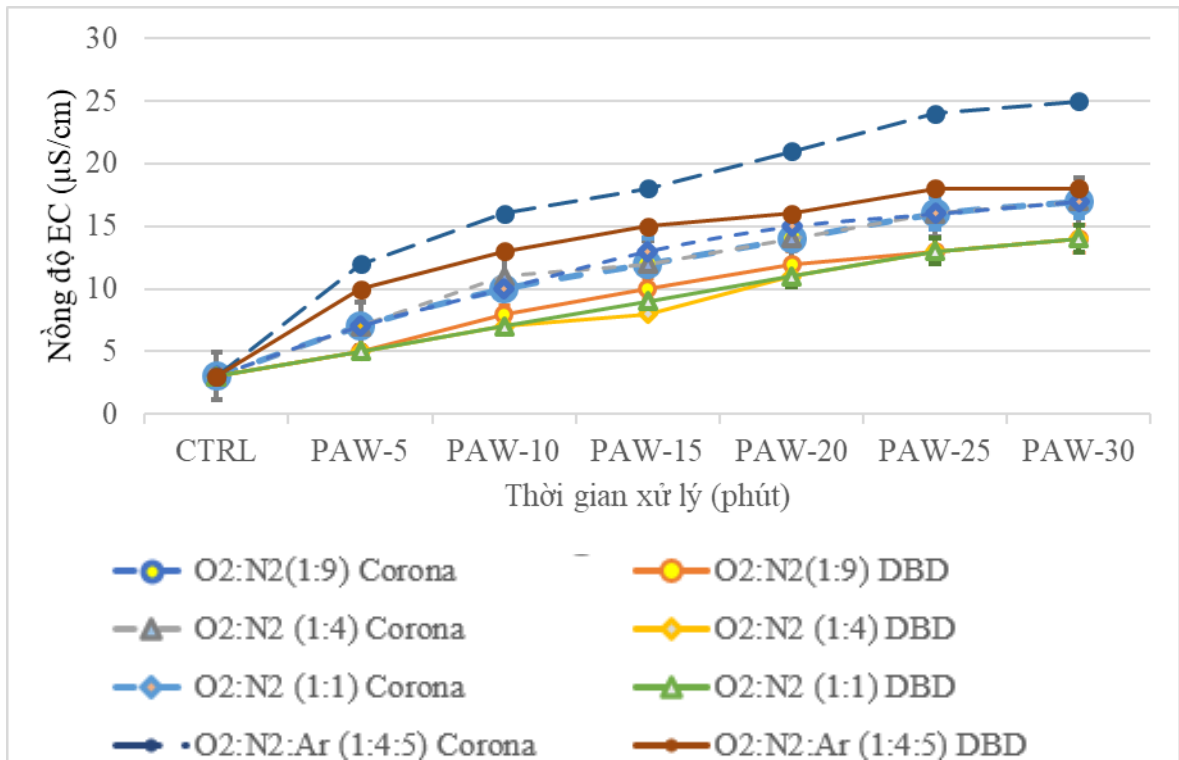
Giá trị EC của các mẫu PAW với thời gian xử lý khác nhau cho đơn khí và hỗn hợp khí cũng được phân tích, đo đạc trong luận án. Hình 3.6 biểu diễn nồng độ EC của các mẫu PAW với thời gian xử lý khác nhau cho đơn khí trong khi hình 3.7 cho hỗn hợp khí.

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. 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].



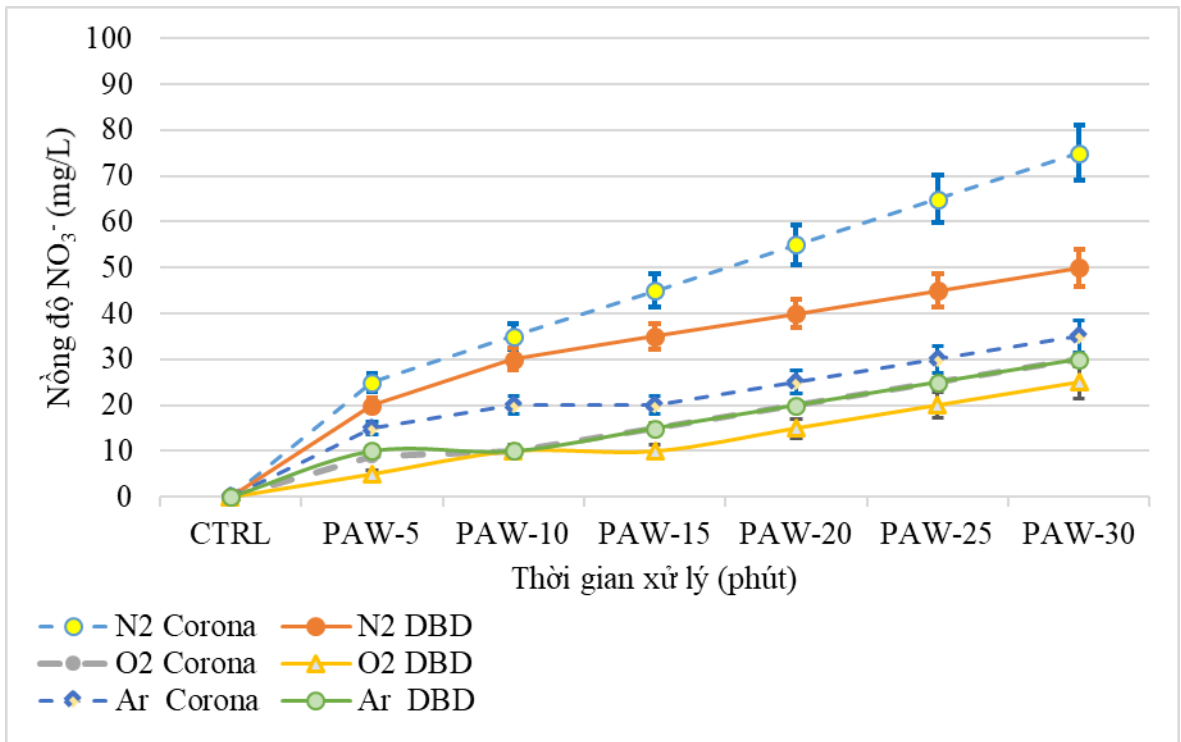
Hình 3.7. Nồng độ EC của PAW theo thời gian cho hỗn hợp khí

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 °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.

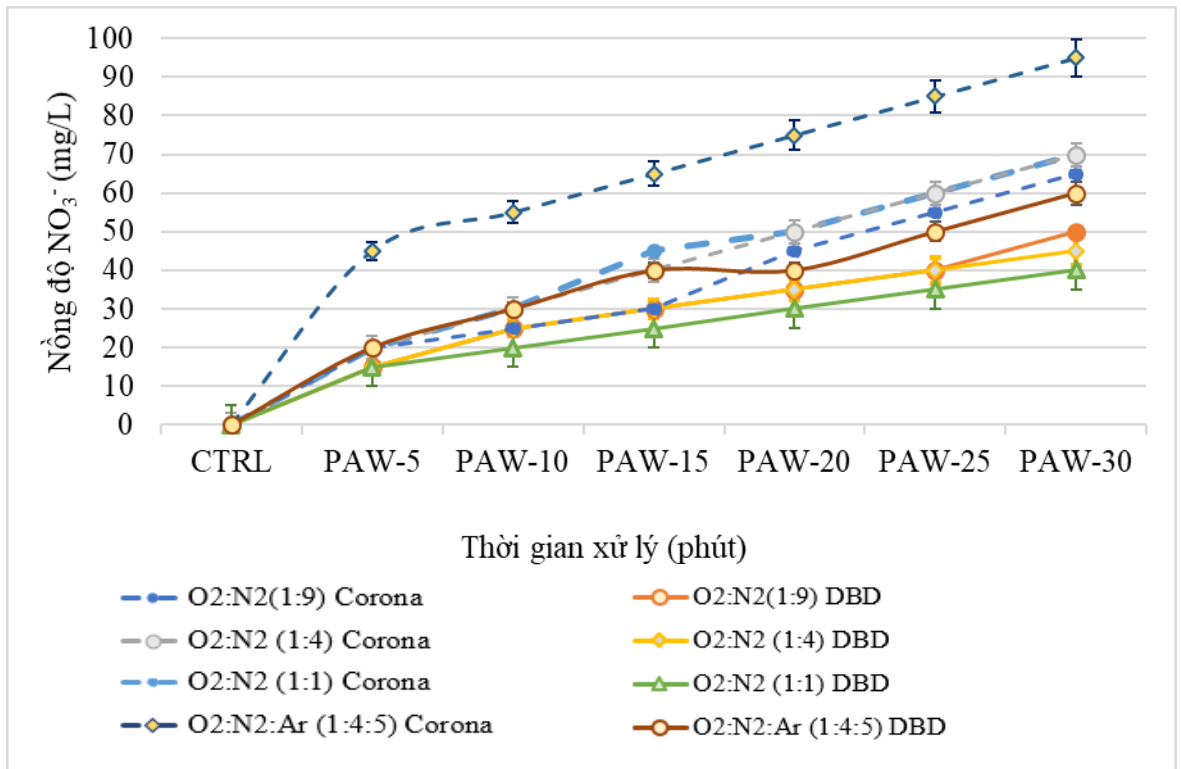
3.2.3. Các ion NO_3^- , NO_2^- , H_2O_2 , O_3

Trong nghiên cứu này, hàm lượng của các ion như NO_2^- , NO_3^- và các phân tử H_2O_2 , 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.

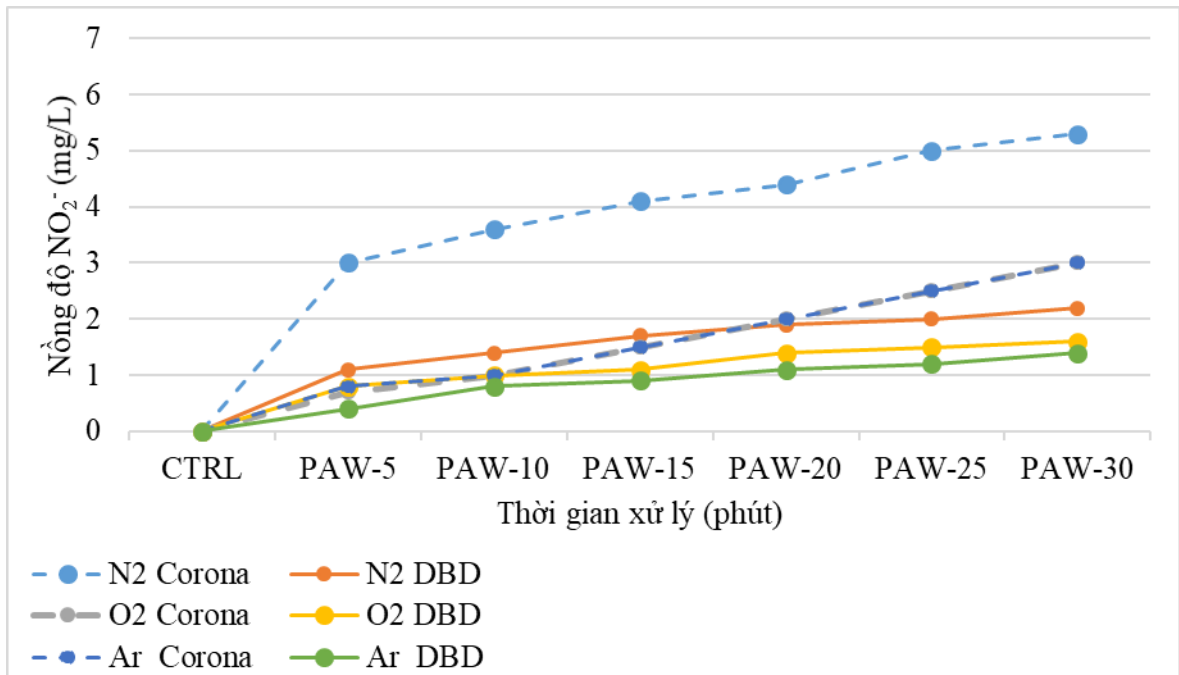
Biểu đồ biểu diễn hàm lượng ion NO_2^- , NO_3^- của các mẫu PAW trong các điều kiện thí nghiệm được chỉ ra trong hình 3.8 đến 3.11



Hình 3.8. Nồng độ NO_3^- của PAW theo thời gian cho đơn khí



Hình 3.9. Nồng độ NO_3^- của PAW theo thời gian cho hỗn hợp khí

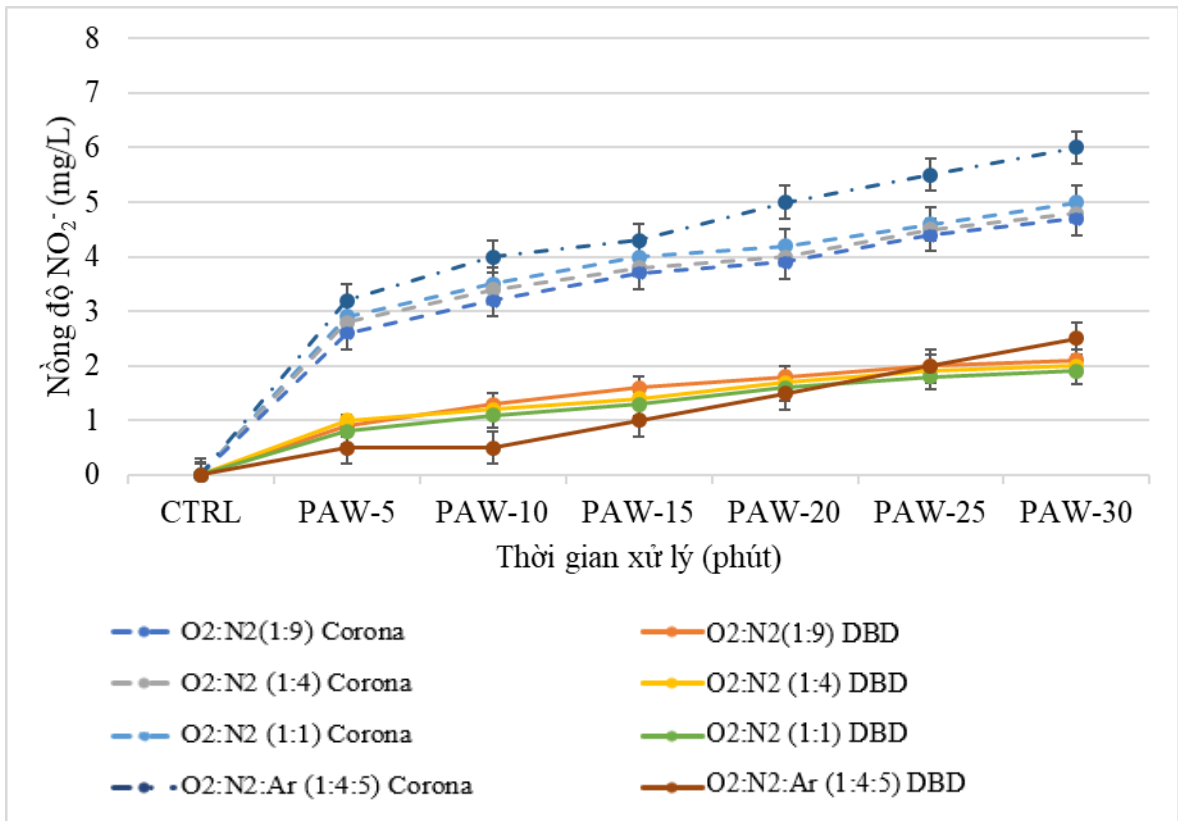


Hình 3.10. Nồng độ NO_2^- của PAW theo thời gian cho đơn khí

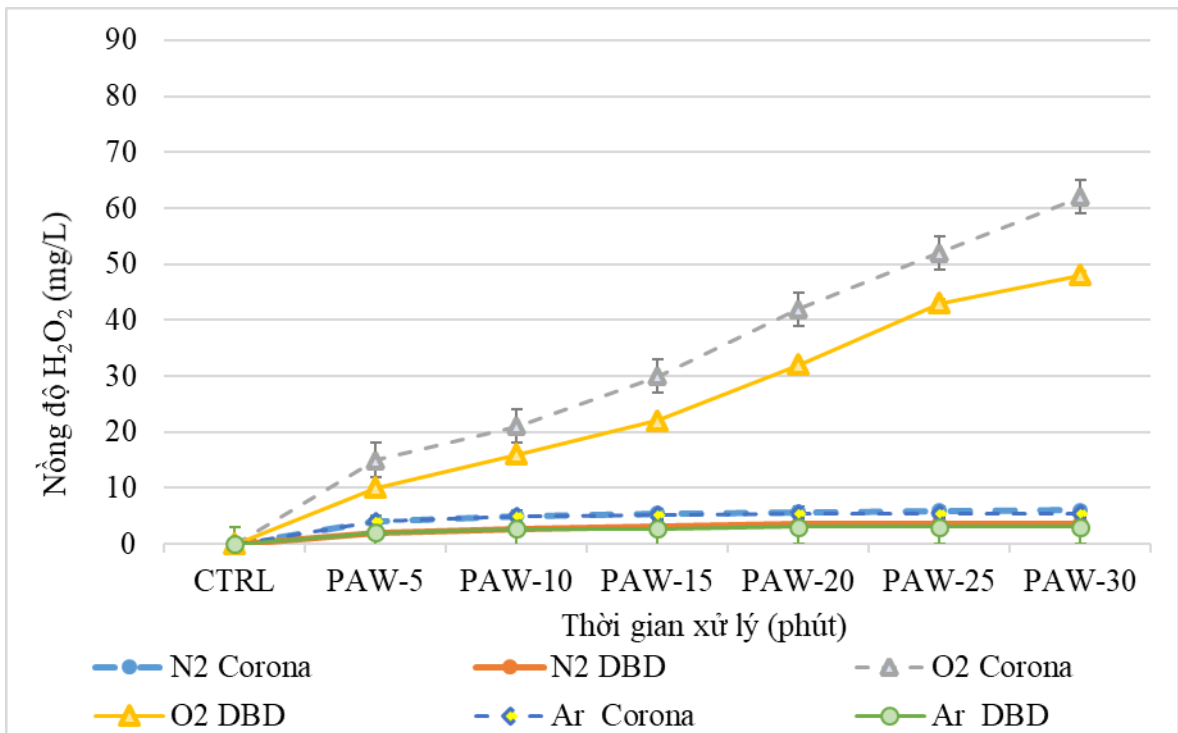
Hình 3.8 đến 3.11 đều cho thấy cả hai ion NO_2^- , NO_3^- đều tăng theo thời gian xử lý trong 30 phút. Tuy nhiên hàm lượng NO_3^- luôn cao hơn NO_2^- trong tất cả các trường hợp. Hàm lượng NO_2^- thấp có thể được giải thích là do quá trình chuyển hóa NO_2^- thành NO_3^- trong môi trường mang tính oxy 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 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 NO_2^- , NO_3^- được khảo sát trong các điều kiện khác nhau, việc hình thành H_2O_2 , O_3 cho các mẫu PAW trong các điều kiện thí nghiệm cũng được chỉ ra trong hình 3.12 và 3.13.

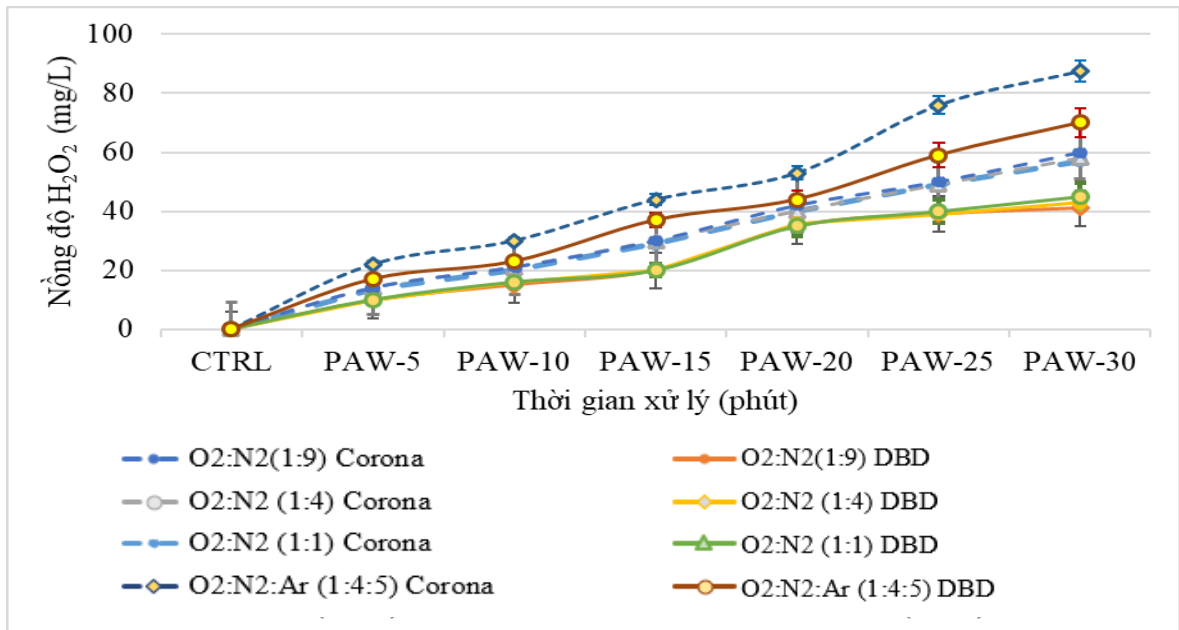
Như thể hiện trong biểu đồ 3.12 và 3.13, hàm lượng của H_2O_2 có xu hướng tương tự như của NO_3^- khi thời gian xử lý plasma tăng lên: Từ 0 mg/L trong mẫu đối chứng lên giá trị cao nhất gần 90 mg/L ở lần xử lý plasma với thời gian 30 phút. Sự hình thành H_2O_2 trong nước chủ yếu bắt nguồn từ phản ứng giữa hơi ẩm trong không khí hoặc nước trong dịch với tác nhân oxy hóa như O^{\bullet} và OH^{\bullet} .



Hình 3.11. Nồng độ NO_2^- của PAW theo thời gian cho hỗn hợp khí



Hình 3.12. Nồng độ H_2O_2 của PAW theo thời gian cho đơn khí



Hình 3.13. Nồng độ H₂O₂ 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 ₂		O ₂		Ar		O ₂ :N ₂ (1:9)		O ₂ :N ₂ (1:4)		O ₂ :N ₂ (1:1)		O ₂ :N ₂ :Ar (1:4:5)	
	Cor	DBD	Cor	DBD	Cor	DBD	Cor	DBD	Cor	DBD	Cor	DBD	Cor	DBD
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: “Cor” kiểu phóng plasma Corona

“DBD” 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 NO_3^- , NO_2^- , H_2O_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 N_2 và 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 (O_2 , N_2 và Ar với tỉ lệ 1, 4, 5 theo thứ tự tương ứng) đều phù hợp cho nghiên cứu kế tiếp.

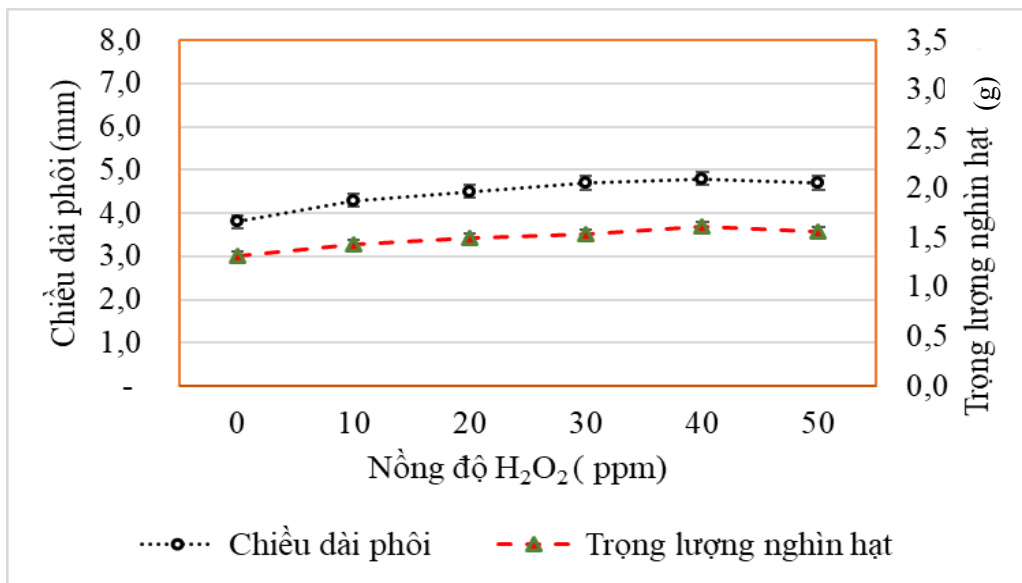
Từ các đánh giá trên cho thấy kiểu phóng plasma DBD là phù hợp hơn cho các nghiên cứu tiếp theo của luận án.

3.4. Khảo sát ảnh hưởng của H₂O₂, N, P, K đối với quá trình nảy mầm và sinh trưởng

3.4.1. Ảnh hưởng của tác chất H₂O₂

3.4.1.1. Quá trình nảy mầm

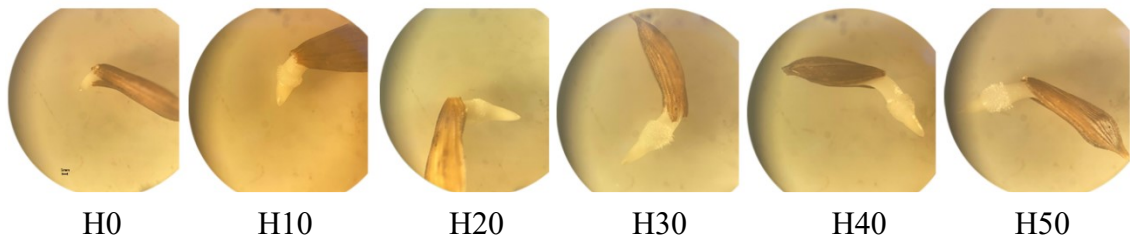
Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của hàm lượng H₂O₂ từ 0 đến 50 ppm cho sự nảy mầm và sinh trưởng đã được khảo sát trên cây xà lách xoăn. Hình 3.14 biểu diễn các chỉ số nảy mầm của hạt bao gồm chiều dài phôi và trọng lượng nghìn hạt đối với H₂O₂ ở các hàm lượng khác nhau.



Hình 3.14. Chiều dài phôi và trọng lượng nghìn hạt trong các mẫu xử lý H₂O₂ ở các hàm lượng khác nhau

Từ hình 3.14 cho thấy đối với tất cả các trường hợp, trọng lượng hạt ngâm với H₂O₂ 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.

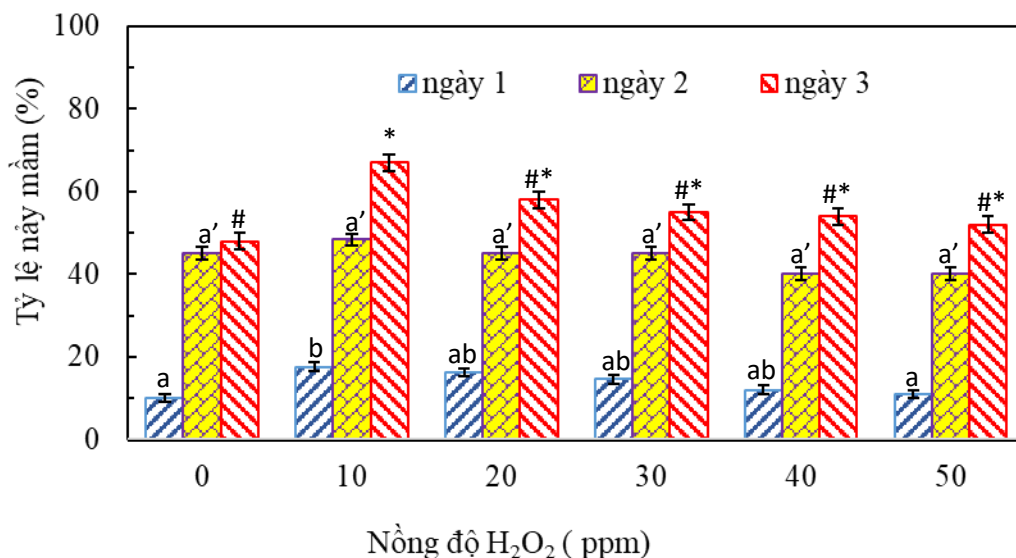


Hình 3.15. Ảnh chiều dài phôi của các mẫu với hàm lượng H_2O_2 khác nhau sau 24 giờ

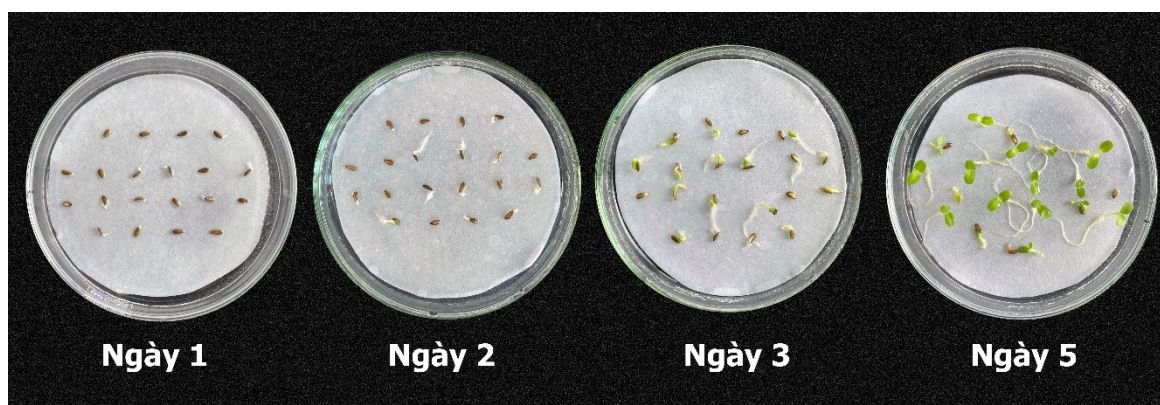
Hình chụp từ hình 3.15 cho thấy, hình ảnh phôi H0 (mẫu không có H_2O_2) có chiều dài phôi ngắn nhất so với tất cả các mẫu. Chiều dài phôi của hạt ở mẫu H10 đã tăng 13%, và sau đó có xu hướng tăng đều cho đến H40 (26,3%). Khi sang mẫu H50, chiều dài phôi tuy vẫn tăng (23,7%), nhưng bắt đầu có xu hướng 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 tỉ 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. Tỷ lệ nảy mầm hạt trong các mẫu xử lý H₂O₂ ở các nồng độ khác nhau. Các giá trị trung bình của cùng 1 hàng/ cột bởi các mẫu tự theo sau khác nhau thì chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$).



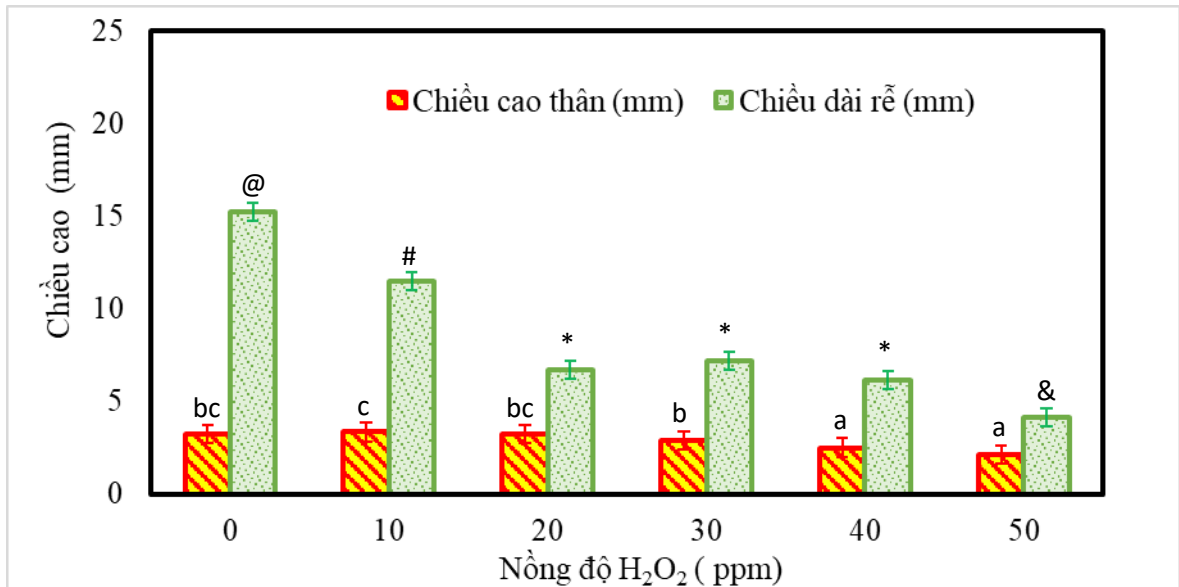
Hình 3.17. Ảnh chụp khả năng nảy mầm của mẫu 10 ppm H₂O₂ sau 5 ngày

Kết quả cũng cho thấy xu hướng giảm dần của tỉ lệ nảy mầm hạt được ghi nhận khi tăng hàm lượng H₂O₂ lớn hơn 10 ppm. Điều này một lần nữa khẳng định vai trò của H₂O₂ có những ảnh hưởng tích cực đến thực vật. Thật vậy, H₂O₂ có khả năng oxy 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, H₂O₂ 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, H₂O₂ 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. Giá trị chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 5 ngày ở các hàm lượng H_2O_2 khác nhau. Các giá trị trung bình của cùng 1 hàng/ cột bởi các mẫu tự theo sau khác nhau thì chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$).

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.

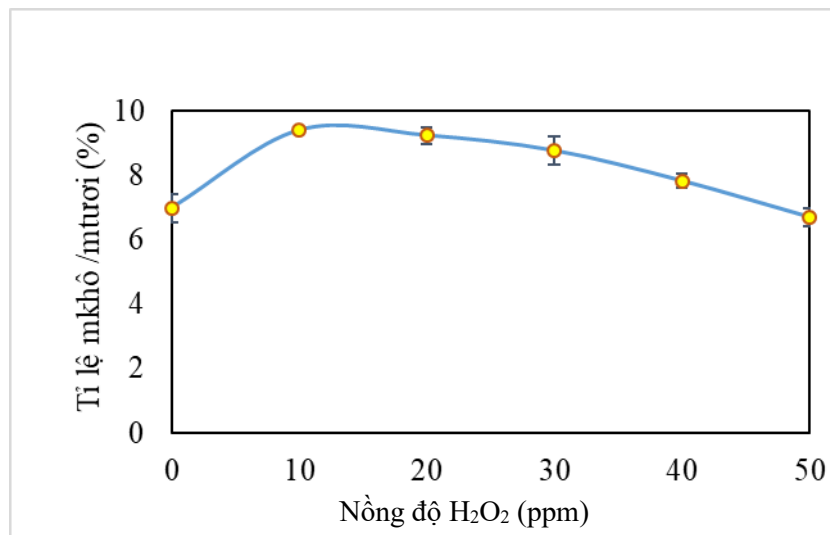
Từ các nhận định trên cho thấy chiều dài rễ có xu hướng giảm khi tăng hàm lượng H_2O_2 trong các mẫu thí nghiệm. Điều này phù hợp với các nhận định ở các nghiên cứu tương tự: Ở hàm lượng cao, H_2O_2 tác động tiêu cực đến thực vật dẫn đến căng thẳng sinh học đối với tế bào thực vật, nhưng với lượng vừa 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_2O_2 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_2O_2 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_2O_2 ở các hàm lượng khác nhau.



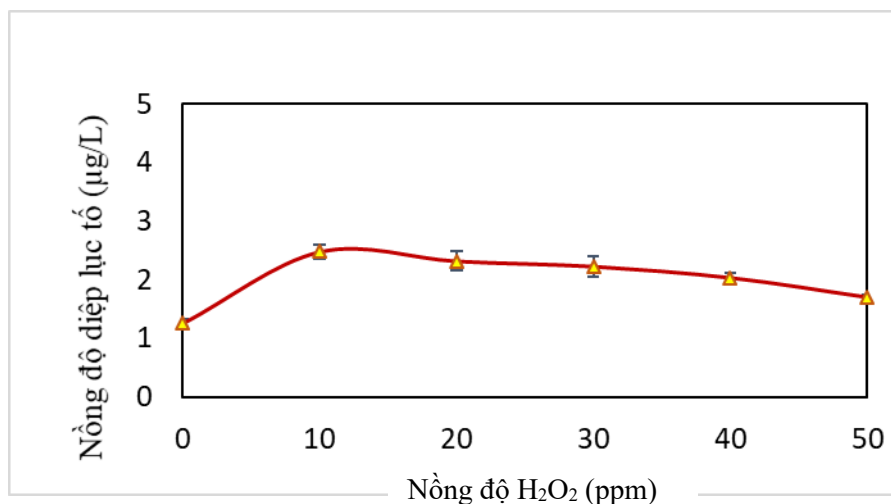
Hình 3.20. Tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi của các mẫu xử lý H_2O_2 ở các hàm lượng khác nhau

Kết quả nghiên cứu tỷ lệ trọng lượng phần trên mặt đất và rễ của xà lách xoăn cho thấy khi sử dụng H_2O_2 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_2O_2 sử dụng trên 10 ppm, nhìn chung tỷ lệ này đều thấp hơn so với mẫu

H10. Ở hàm lượng 50 ppm, tỉ lệ này giảm khoảng 4% so với mẫu đối chứng. Như vậy, H₂O₂ có thể tham gia vào quá trình tăng trọng lượng thông qua quá trình thực vật hóa mô. Việc sử dụng H₂O₂ 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 H₂O₂ giúp hệ thống rễ khỏe hơn, tăng sự phát triển của cây con và tăng khả năng chịu mặn. Trong quá trình xâm nhập, H₂O₂ sẽ theo các hoạt động hô hấp của ty thể, thông qua các hoạt động của con đường oxy hóa β và thông qua các enzyme như NADPH oxidase, peroxidase ngoại bào và oxalat oxidase. Mức độ H₂O₂ cũng được kiểm soát chính xác thông qua cơ chế chống oxy hóa. H₂O₂ 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 H₂O₂ 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. Nồng độ diệp lục của các mẫu xử lý H₂O₂ 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 H₂O₂ 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 H₂O₂, 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].

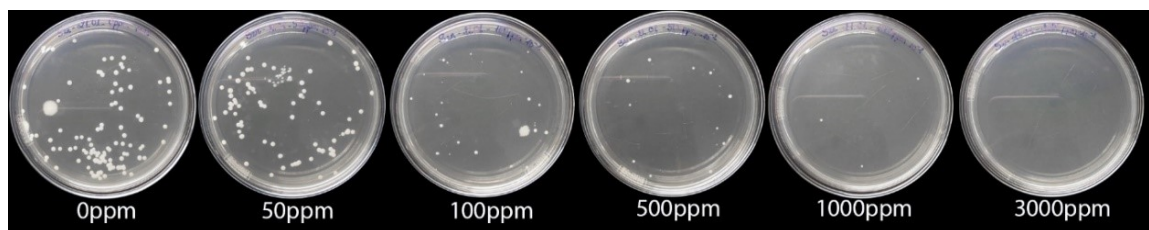
3.4.1.3. Khả năng kháng khuẩn và nấm

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 nồng độ 1×10^6 CFU/ mL và kháng nấm *Fusarium* spp. ở nồng độ 5×10^6 CFU/ mL với các hàm lượng H_2O_2 tăng dần từ 0 đến 3.000 ppm.

Các kết quả quan sát từ hình 3.22 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.

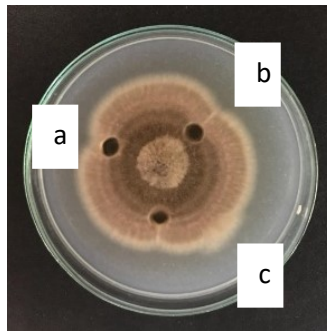
Hình 3.23 cho thấy ở cùng hàm lượng thì khả năng diệt nấm khó hơn so với diệt khuẩn.



Hình 3.22. Kết quả kháng *Xanthomonas* spp. của H_2O_2 ở các hàm lượng 0 đến 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 *Fusarium* spp. của H_2O_2 ở các hàm lượng 50 ppm (a), 200 ppm (b), 1000 ppm (c) 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

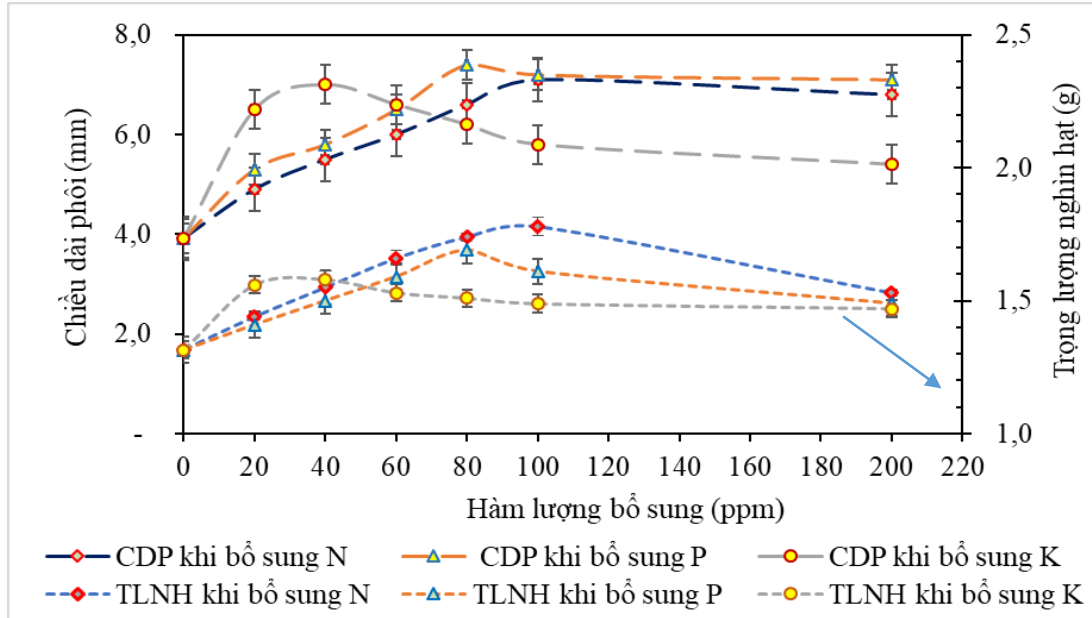
3.4.2.1. Quá trình nảy mầm

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.

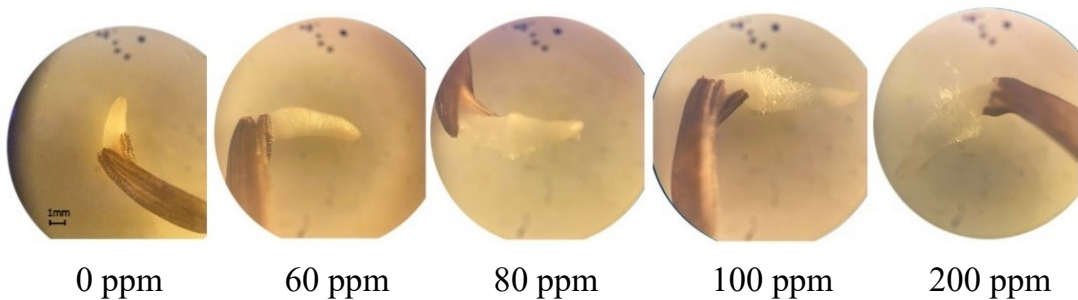
Từ hình 3.24 cho thấy xu hướng trọng lượng nghìn hạt được đều có sự tăng dần khi tăng hàm lượng bổ sung. Cụ thể: Tăng từ 9,49% đến 35,34% (ở 100 ppm) cho N, 7,22% đến 28,52% (ở 80 ppm) cho P, và 11,79% đến 20,15% (ở 20 ppm) cho K. Nhìn chung, xu hướng tăng này không tuyến tính. Ở việc bổ sung hàm lượng 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 $P > N > K$.

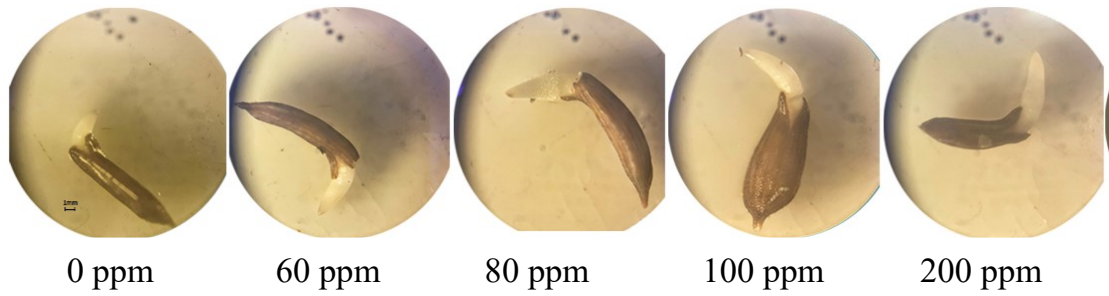


Hình 3.24. Trọng lượng nghìn hạt và chiều dài phôi khi bổ sung N, P, K ở hàm lượng khác nhau

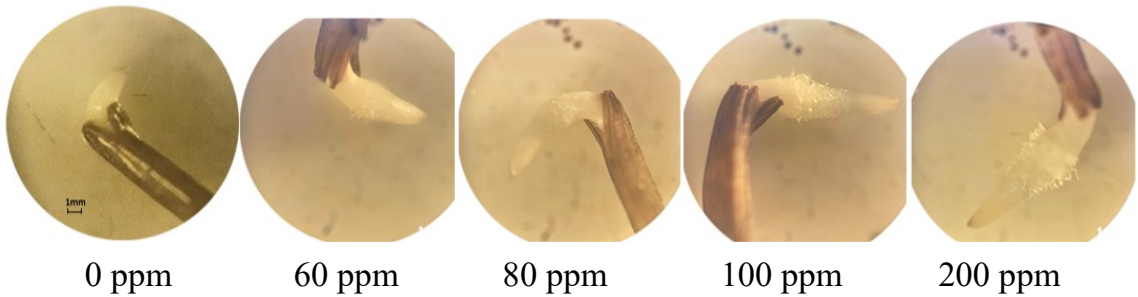
Trên ảnh chụp từ hình 3.25 đến 3.27 đều cho thấy sự gia tăng khác biệt về chiều dài và hình thái phôi khi được bổ sung hàm lượng càng cao các khoáng chất sau 24 giờ, đã có sự xuất hiện các lông tơ nhỏ ngay từ hàm lượng 10 ppm được thêm vào. Sự hấp thụ dung dịch khiến hạt phình to ra đã diễn ra ở ngưỡng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

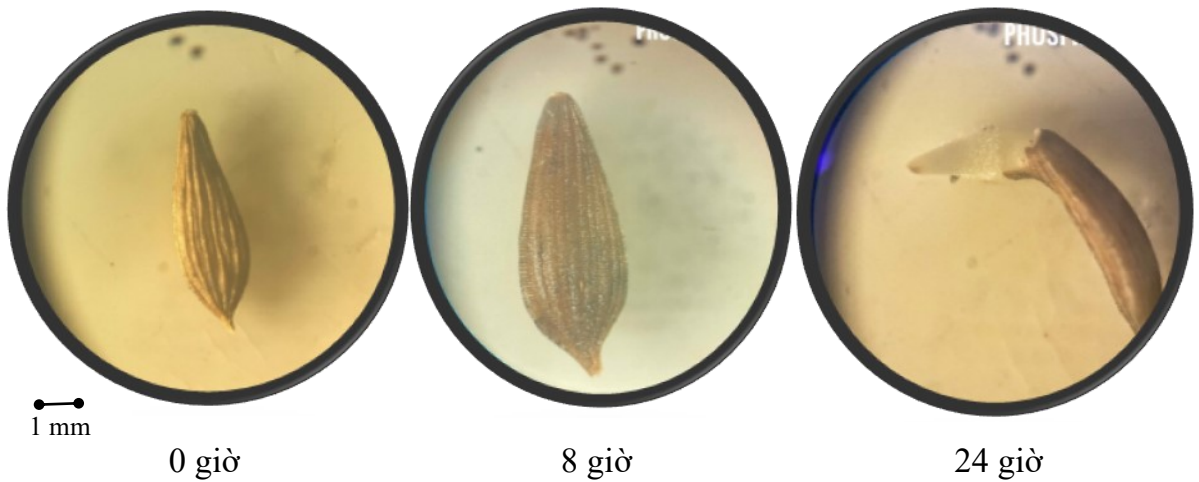


Hình 3.26. Ảnh chiều dài phôi khi bổ sung hàm lượng P từ 0 ppm đến 200 ppm sau 24 giờ.



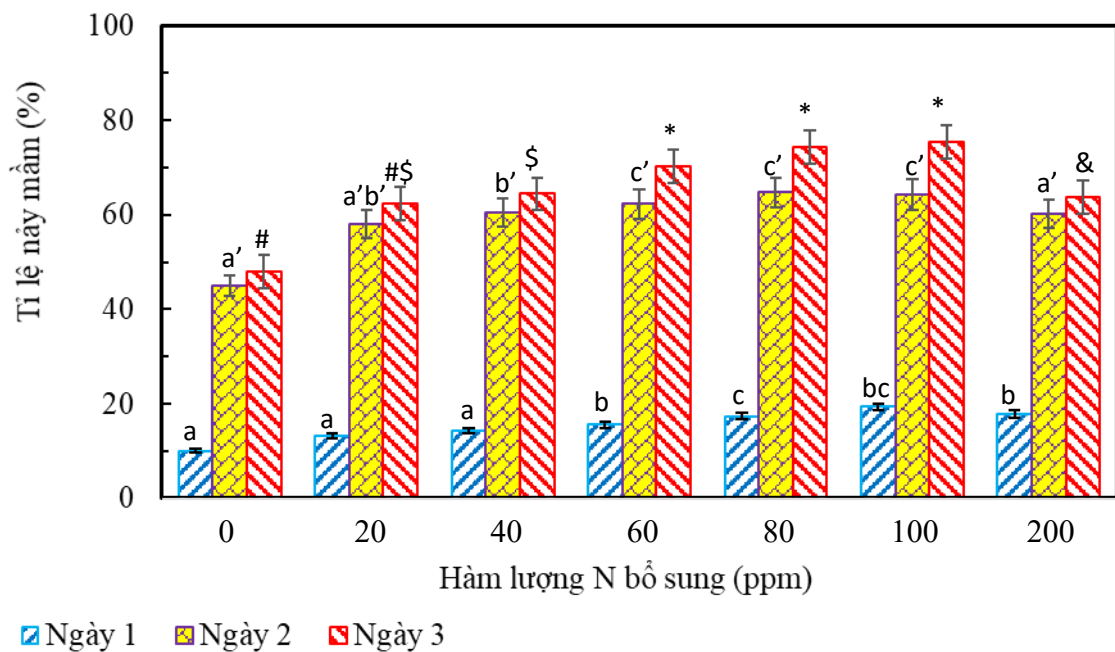
Hình 3.27. Ảnh chiều dài phôi khi bổ sung hàm lượng K từ 0 ppm đến 200 ppm sau 24 giờ.

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 80 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 tỉ lệ nảy mầm hạt cũng được tiến hành khảo sát với kết quả thể hiện bên dưới (hình 3.29).



Hình 3.29. Tỉ lệ nảy mầm hạt của các mẫu bổ sung N ở các hàm lượng trong 3 ngày. Các giá trị trung bình của cùng 1 hàng/ cột bởi các mẫu tự theo sau khác nhau thì chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$)

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 tỉ lệ nảy mầm xuất hiện từ mẫu N10 đến N200.

Từ các kết quả khảo sát về chiều dài phôi, trọng lượng nghìn hạt, tỉ 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 tỉ lệ axit abscisic/ gibberellin [121, 122].

Tỉ 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 căn 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 tỉ lệ nảy mầm đều xuất hiện tương tự ở các mẫu như đối với N. Hình 3.26 và 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 tỉ lệ nảy mầm như N, P. Hình 3.27 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 xoăn 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 thụ 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*

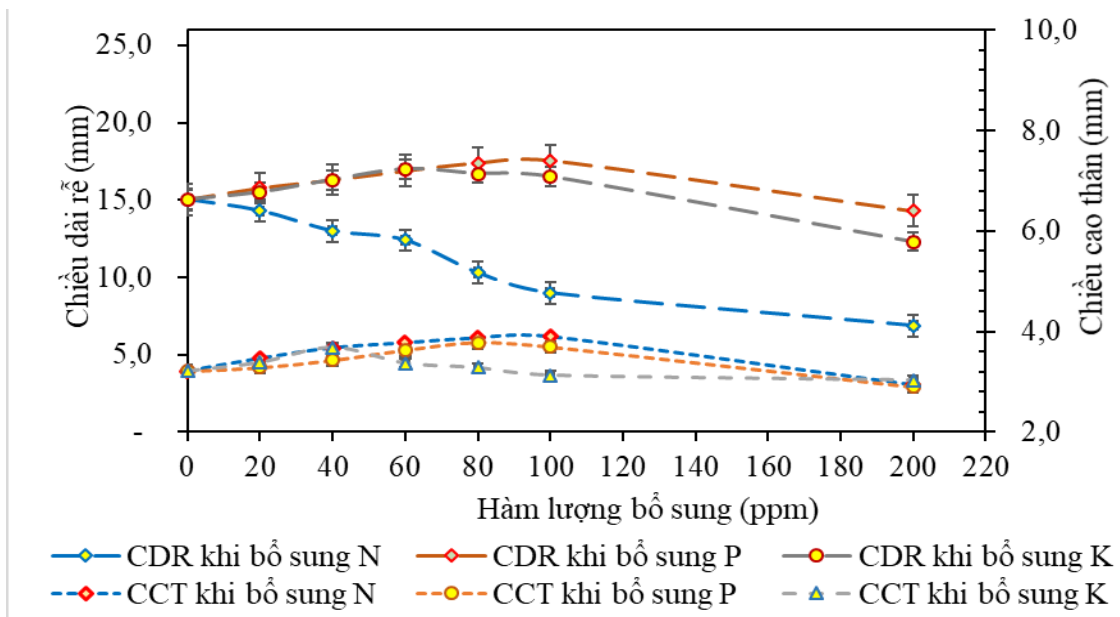
- Chiều cao thân và rễ

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.



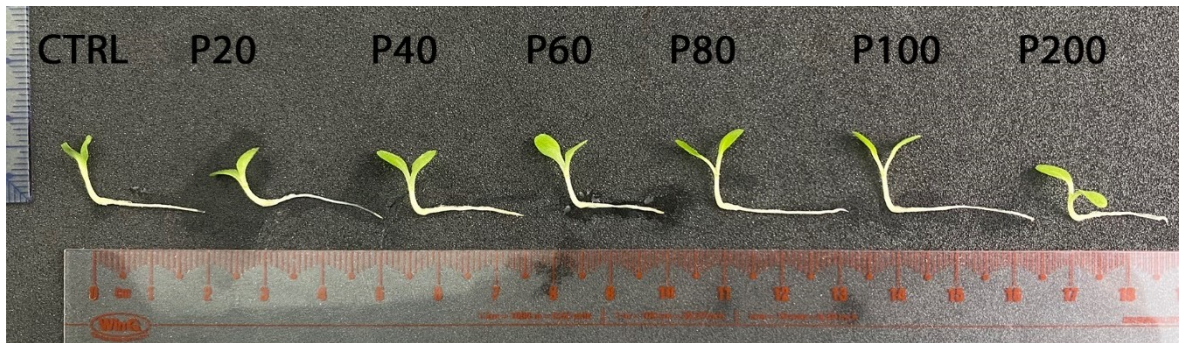
Hình 3.30. Chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 7 ngày ở các hàm lượng N



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

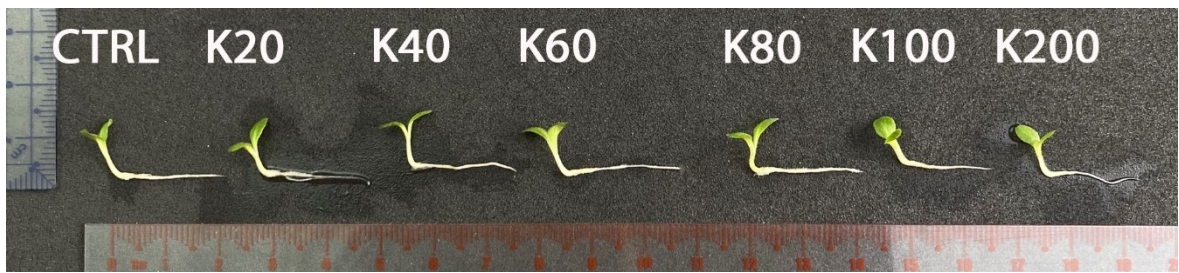
Đối với khoáng chất P: Khác với ảnh hưởng của N, chiều cao thân và chiều dài rễ xà lách xoắn lại có xu hướng tăng dần từ 0 ppm đến 100 ppm, tăng 17,76% đối với chiều cao thân ở mẫu P80 và 29,74% đối với chiều dài rễ ở mẫu P100. Khi tăng hàm lượng P lên 200 ppm, xu hướng giảm nhanh chiều cao thân và chiều dài rễ đã xuất hiện. Quan sát bằng hình ảnh (hình 3.32) 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

trồng 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 chiều cao thân và chiều dài rễ của hạt sau 5 ngày ở các hàm lượng P

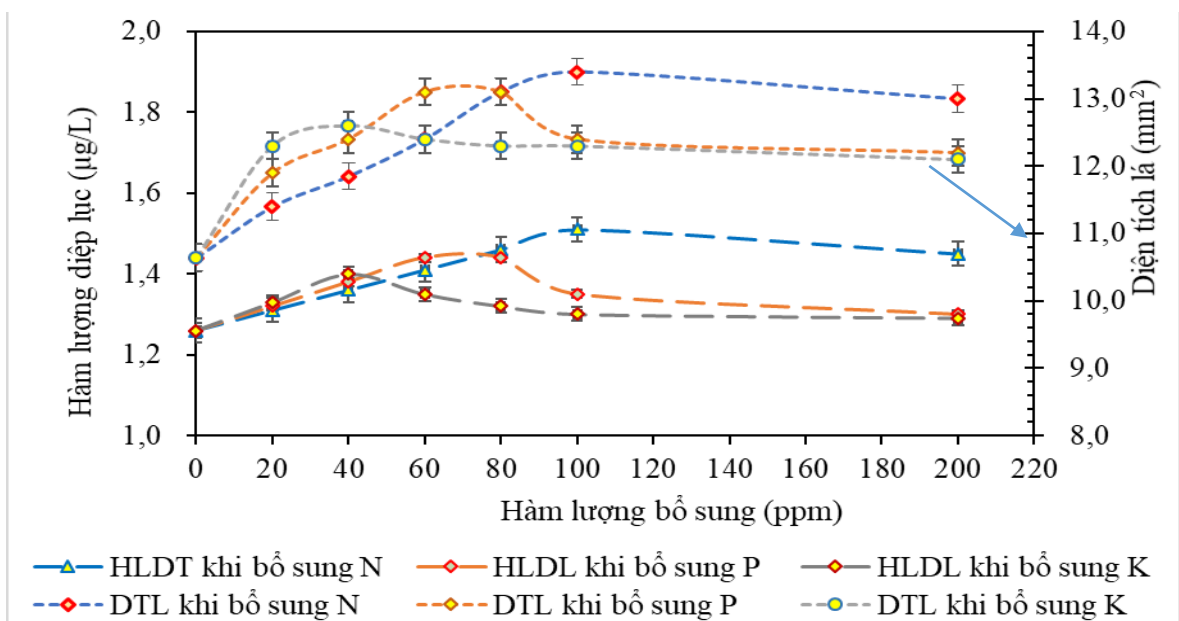
Đối với khoáng chất K: Các kết quả cho thấy việc bổ sung K có thể làm tăng chiều cao thân và chiều dài rễ của cây so với mẫu đối chứng (Hình 3.33). Xu hướng gia tăng dần chiều cao thân diễn ra đến mẫu K40 và chiều dài rễ cũng tăng đến mẫu K60. Điều này cho thấy rằng việc bổ sung K trong giai đoạn đầu 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 (từ 80 - 200ppm) 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 tỉ 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 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.

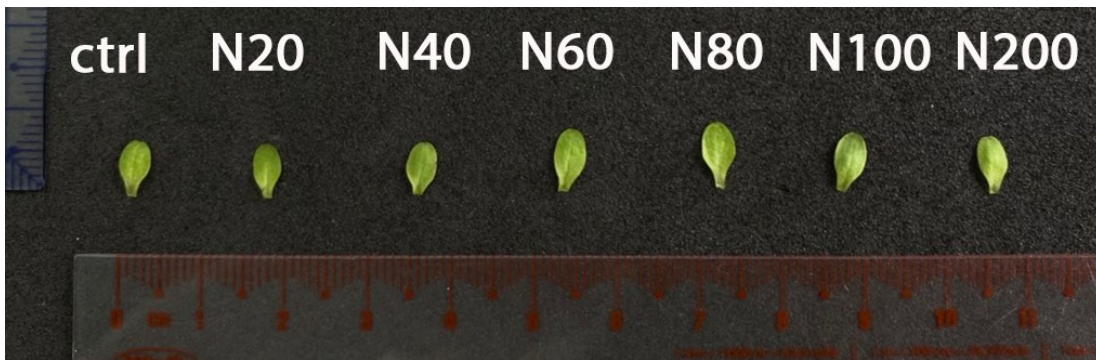


Hình 3.34. Giá trị diện tích lá và hàm lượng diệp lục khi bổ sung các khoáng chất ở hàm lượng khác nhau

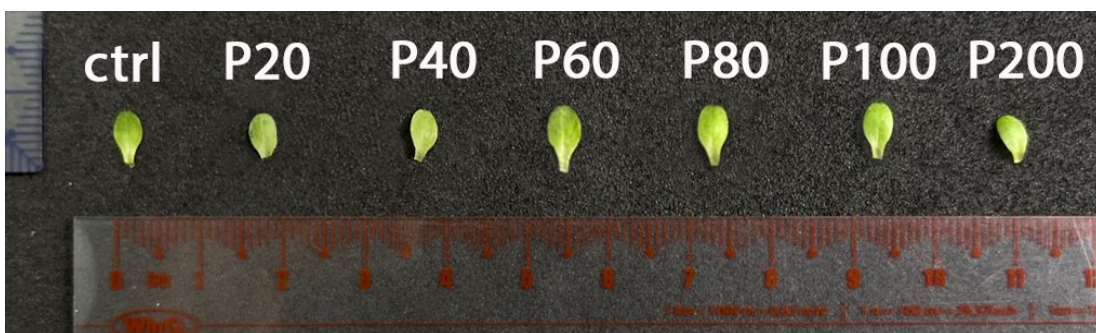
Từ kết quả hình 3.34 cho thấy có sự tương đồng giữa hàm lượng diệp lục và diện tích lá. Khi tăng hàm lượng trên các khoáng chất khác nhau đều chỉ ra xu hướng tăng đến ngưỡng phù hợp, sau đó các chỉ số đều giảm tương ứng, kể cả các chỉ số của sự nảy mầm như phần trên đã trình bày. Điều này cho thấy ở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

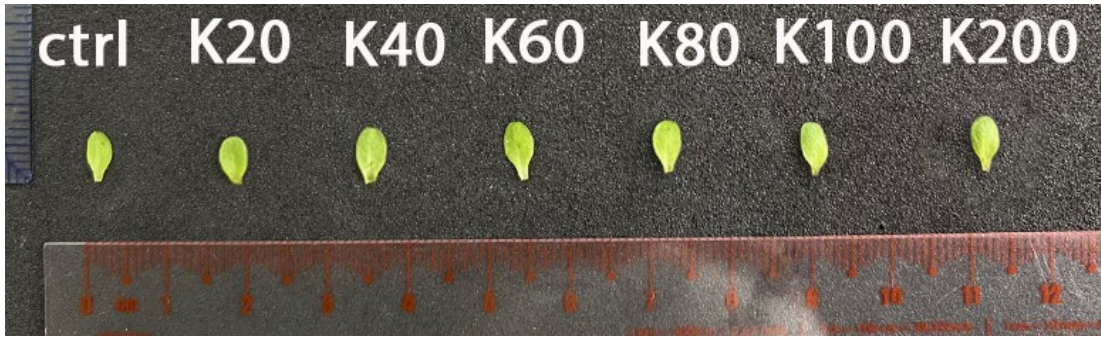
Nhận định trên một lần nữa được khẳng định thông qua quan sát hình chụp của các mẫu về diện tích là theo hình 3.34 đến 3.36 cho hàm lượng N, P, K bổ sung từ 0 đến 200 ppm.



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



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

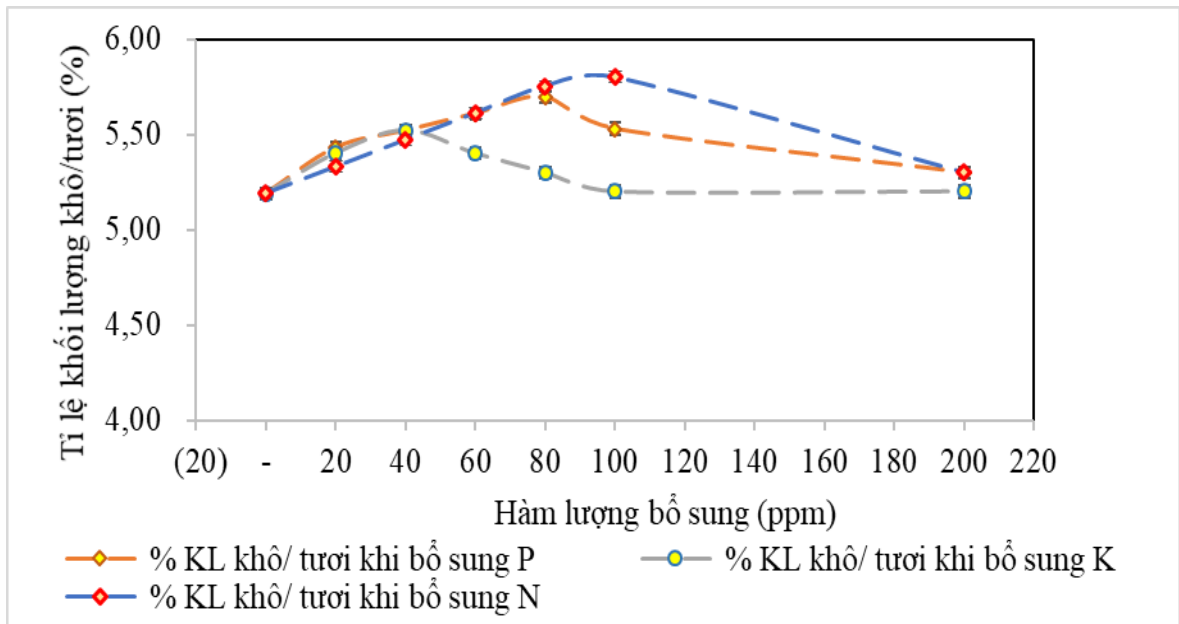


Hình 3.37. Ảnh chụp sự phát triển lá của xà lách xoăn sau 7 ngày ở các hàm lượng K

- 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 tỷ 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. Tỷ 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

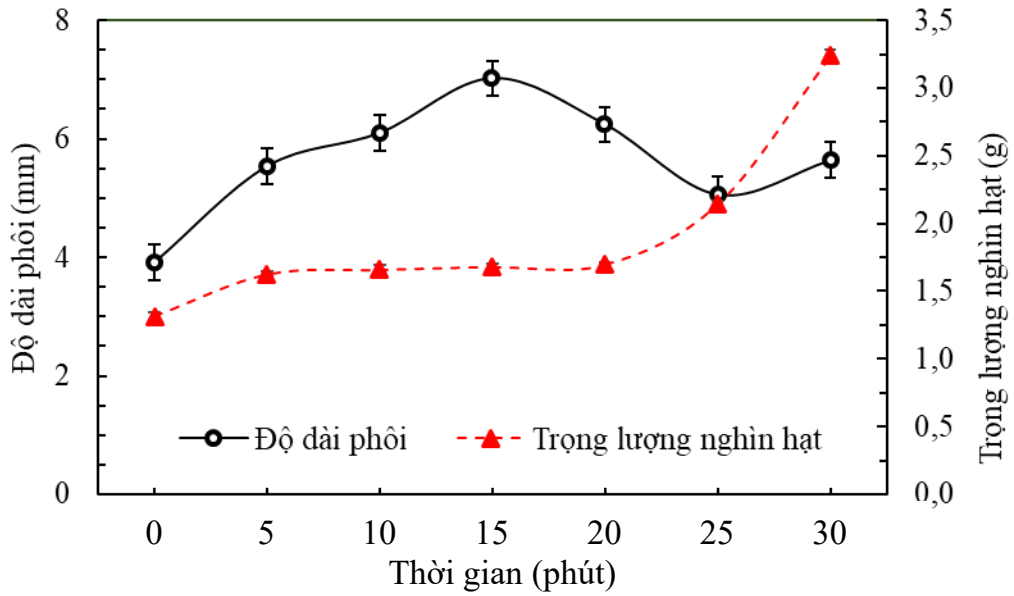
3.5.1. Quá trình nảy mầm

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 tỉ lệ nảy mầm bằng cách phá vỡ sự ngưng tụ của hạt. Sự hiện diện của H₂O₂ trong PAW có thể kích hoạt các phân tử tín hiệu như đã trình bày trong nội dung thử nghiệm với H₂O₂ [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].



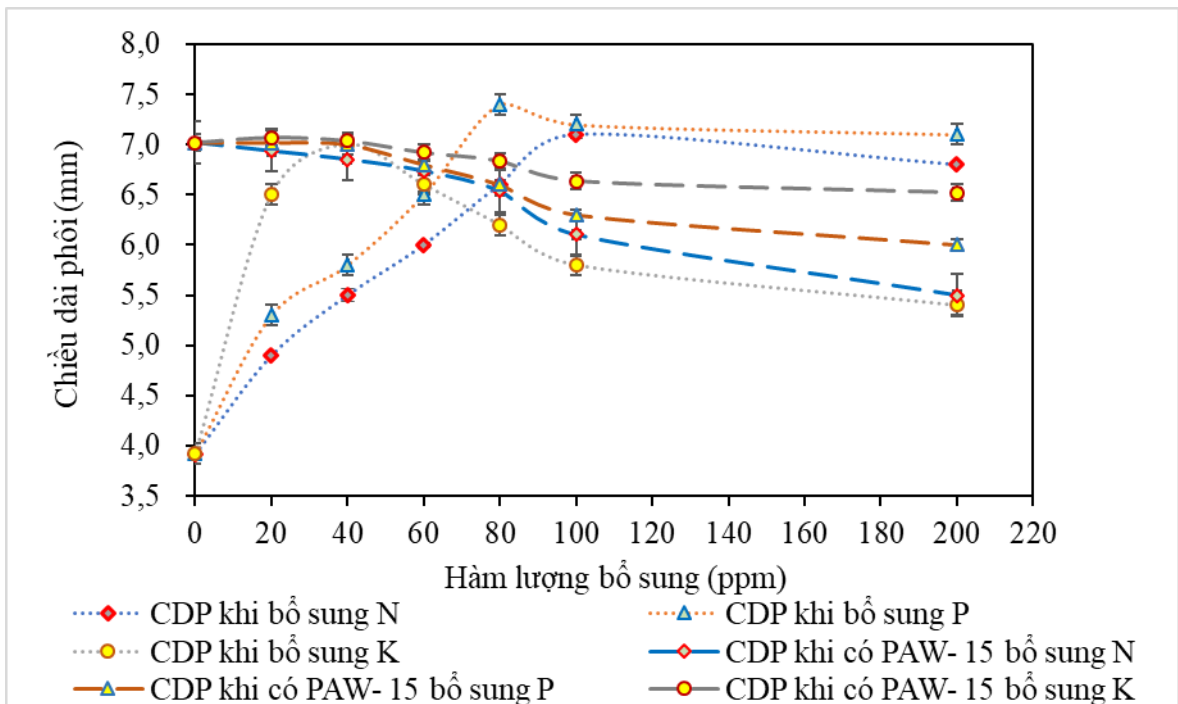
Hình 3.39. Ảnh hưởng của PAW đến các chỉ số nảy mầm của hạt (chiều dài phôi được đo sau 24h và trọng lượng nghìn hạt sau 2 giờ ngâm) ở các mẫu được xử lý từ 0 đến 30 phút.

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.

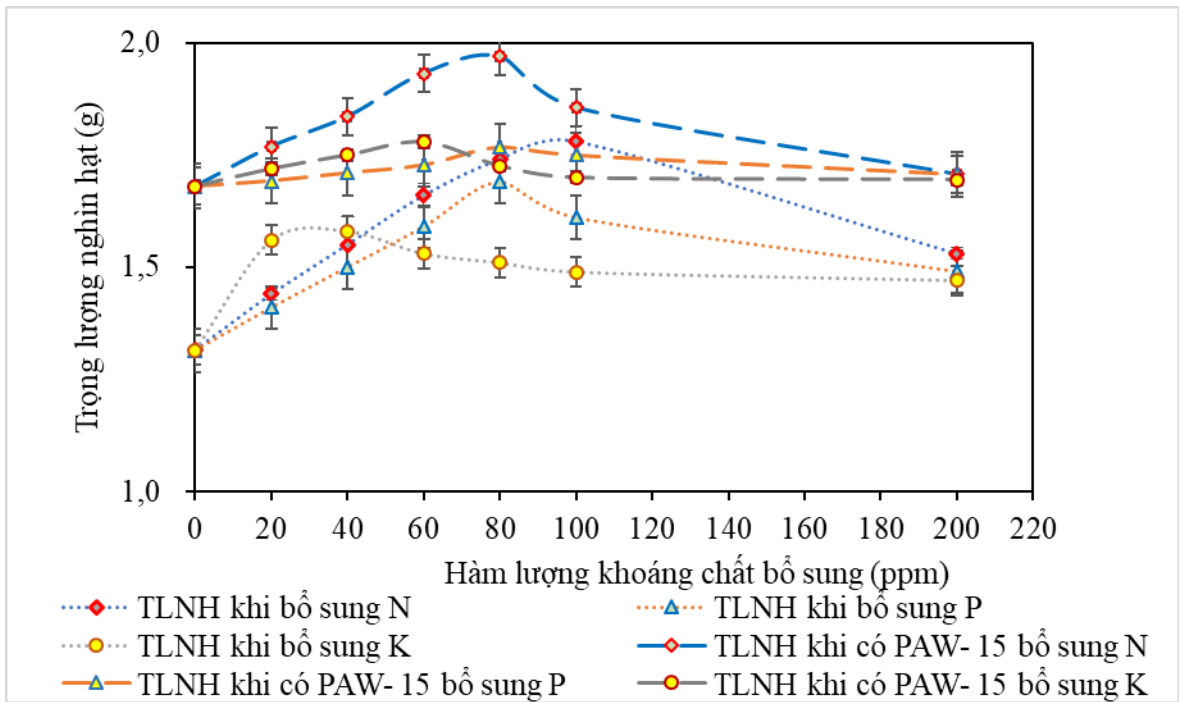
Hình 3.40 và hình 3.41 biểu diễn chiều dài phôi và trọng lượng nghìn hạt đối với các điều kiện PAW-15 kết hợp bổ sung hàm lượng N, P, K tăng dần từ 0 đến 200 ppm. Trong 2 biểu đồ này, giá trị của PAW-15 được dùng làm đối chứng khi xây dựng các đường biểu diễn của PAW15 kết hợp N, P, K bổ sung; ngoài 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].



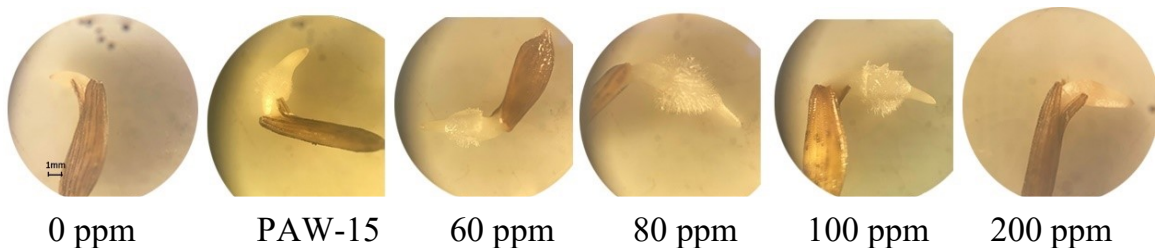
Hình 3.40. Chiều dài phôi đối với các điều kiện không và có PAW-15 kết hợp bổ sung hàm lượng N, P, K tăng dần từ 0 đến 200 ppm



Hình 3.41. 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

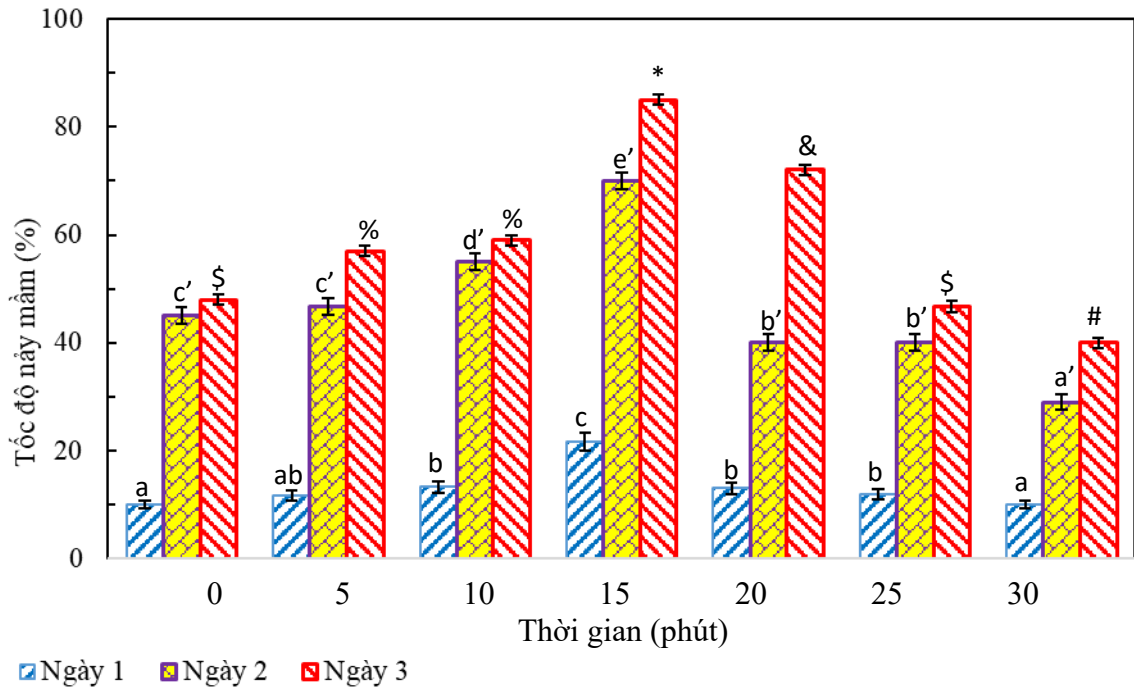
Như vậy dưới tác động của PAW-15, sự hấp thu N, P, K bổ sung vào càng tăng khi gia tăng hàm lượng của chúng, trở thành điều kiện để phôi phát triển tốt hơn, tạo tiền đề cho sự phát triển sau đó của hạt.

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, tỉ lệ nảy mầm của hạt được theo dõi trong 3 ngày đầu sau khi gieo.

Hình 3.43 đến hình 3.45 cho thấy tỉ 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 tỉ lệ nảy mầm khác nhau giữa các ngày. Sau một ngày gieo, tỉ lệ nảy mầm của hạt đạt khoảng 22% khi sử dụng PAW-15, trong khi tỉ lệ này không đổi khoảng 10% đối với các điều kiện khác. Vào ngày thứ hai, tỉ lệ nảy mầm tăng mạnh (từ 3 đến 4 lần so với giá trị đạt được ngày đầu tiên). Cuối cùng sau 3 ngày tỉ 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), tỉ 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. Tốc độ nảy mầm khi được bổ sung PAW trong 3 ngày đầu ở các khoảng thời gian khác nhau. Các giá trị trung bình của cùng 1 hàng/ cột bởi các mẫu tự theo sau khác nhau thì chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$)



Hình 3.44. Sự nảy mầm và phát triển thành cây con của hạt Xa 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, tỉ 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].

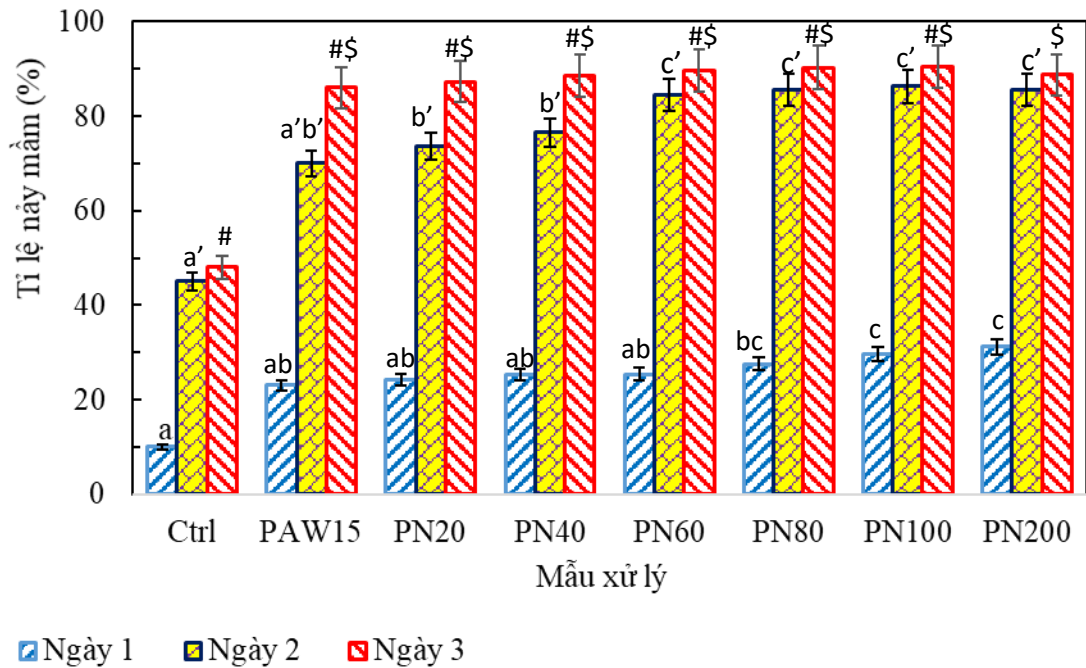
Môi trường acid cao đối với hạt sẽ kích hoạt enzyme pectinase cắt cầu nối polysaccharide giữa các sợi cellulose trong thành tế bào. Hậu quả là làm giãn bề mặt tế bào và tăng khả năng hút nước. Trong điều kiện thí nghiệm, sự thay đổi đáng kể của pH đã được quan sát thấy giữa các mẫu Ctrl (6,9) và các 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 xoăn (6,5 - 5,8) như trong nghiên cứu của nhóm Holmes đã nêu [149].

Nhiều báo cáo đã cho thấy 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 NO_3^- thành NO_2^- , tạo ra các chất chuyển hóa chứa N như acid amin và NO [150]. Ở các loài thực vật khác nhau, 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 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 xoăn, đặc biệt đối với các mẫu PAW-15 chứa khoảng 40 mg/L 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, H_2O_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 tỉ lệ nảy mầm của hạt xà lách xoăn 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 chứng 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 tỉ 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, tỉ lệ nảy mầm hạt thành công không có khác biệt khi so sánh với với mẫu PAW-15



Hình 3.45. Tỉ lệ nảy mầm hạt của xà lách xoăn dưới tác động của đơn chất N kết hợp PAW ở các hàm lượng khác nhau. Các giá trị trung bình của cùng 1 hàng/ cột bởi các mẫu tự theo sau khác nhau thì chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$)

Từ các nhận định trên cho thấy việc dùng PAW-15 (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 tỉ lệ nảy mầm gần như tối đa. 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_3^-). Các kết quả tương tự cũng đã được đề cập ở phần trên trong các nghiên cứu khác [153, 154].

Khi xem xét tỉ 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 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 tỉ lệ nảy mầm của hạt giống.

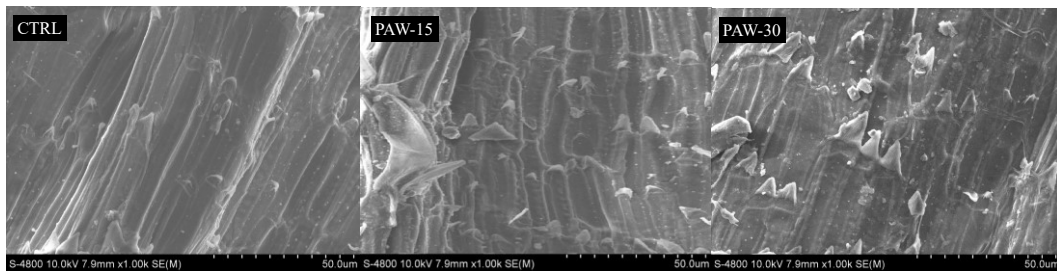
3.5.1.3. Ảnh hưởng của PAW đến sự thay đổi hình thái của hạt

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

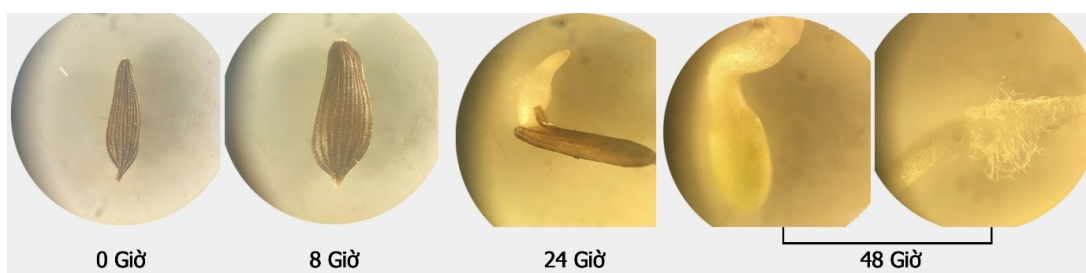
hạt thông qua tác động của RONS có thể oxy hóa chuỗi bên acid amin [156, 157]. Sau khi xử lý PAW-30, bề mặt hạt có mức độ biến đổi cao.



Hình 3.46. Ảnh SEM 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

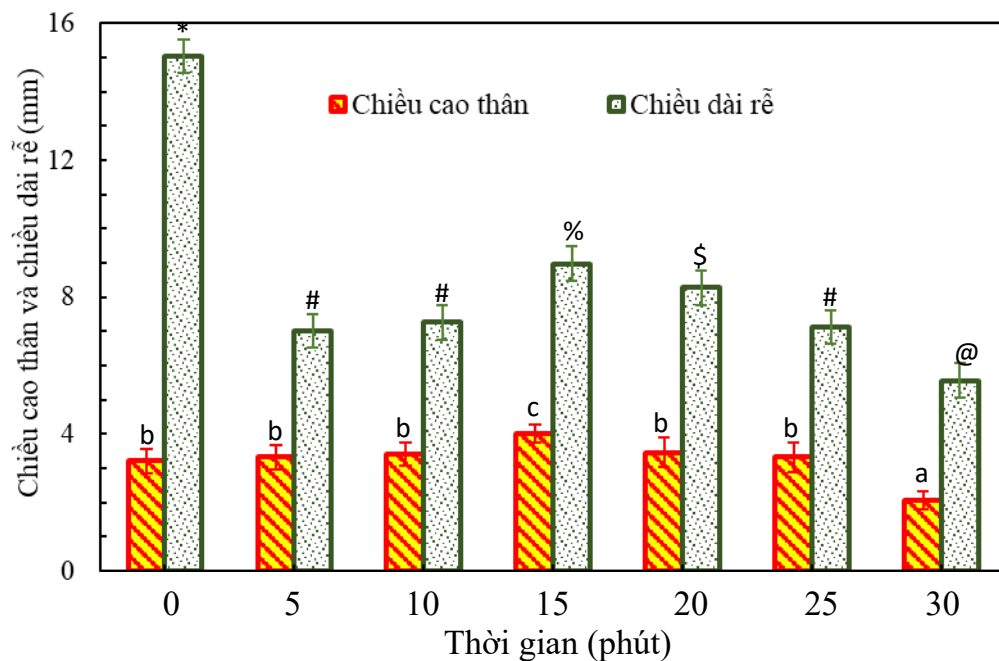
3.5.2. Quá trình sinh trưởng giai đoạn đầu của hạt

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

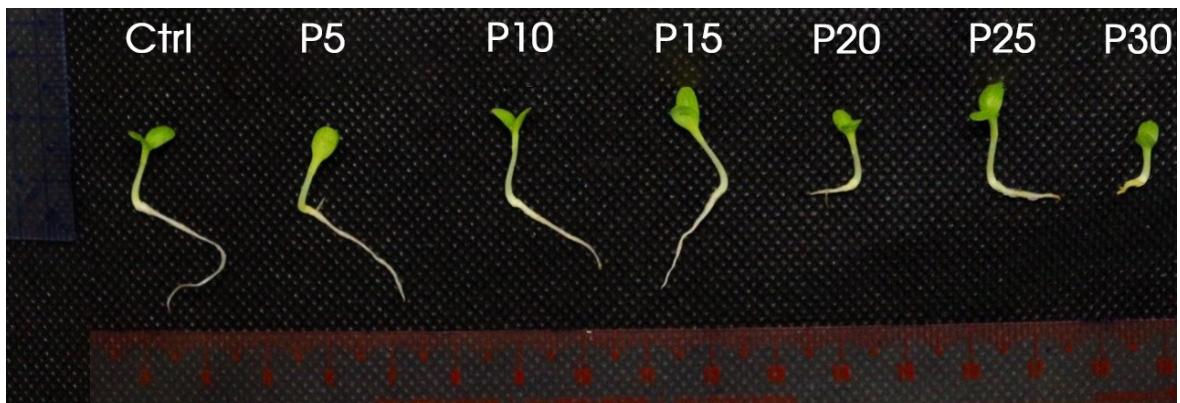
Với kết quả từ quá trình này mầm được khảo sát ở phần trên, để đánh giá vai trò, tác động của PAW và PAW có bổ sung các khoáng chất phục vụ cho việc sinh trưởng giai đoạn đầu, các nghiên cứu về chiều cao thân - chiều dài rễ được tiến hành.

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. Chiều cao thân và chiều dài rễ của xà lách xoăn dưới tác động PAW ở các thời gian khác nhau. Các giá trị trung bình của cùng 1 hàng/ cột bởi các mẫu tự theo sau khác nhau thì chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$)



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, 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.

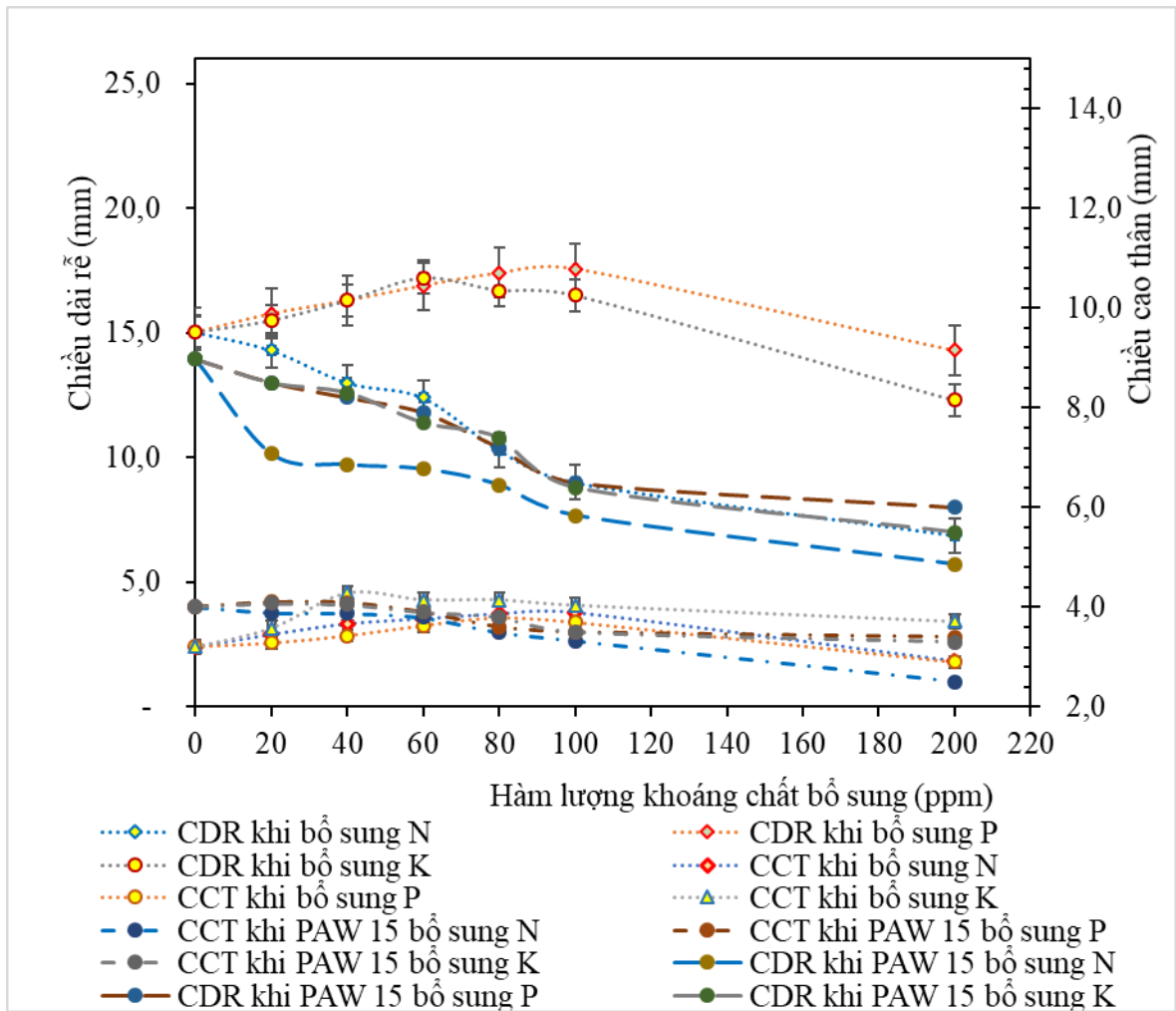
Ngay cả khi bất kỳ sự so sánh nào về độ dài của rễ là khó thực hiện, có thể thấy rằng chiều dài rễ của xà lách xoăn được bổ sung bằng nước cất (Ctrl) cao hơn gần hai lần so với các mẫu được bổ sung bằng PAW từ 5 đến 20 phút. Khi thời gian xử lý plasma tăng lên, chiều dài rễ, theo xu hướng tương tự như tỉ 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 H_2O_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. 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 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.

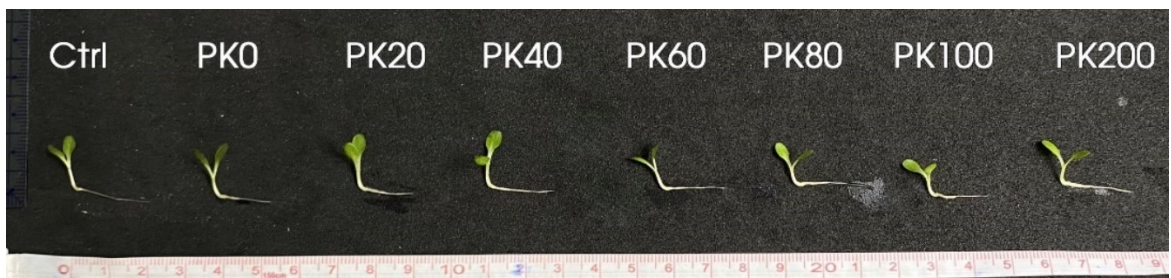
Do vậy, cần thiết khảo sát và đo đạc tiếp các chỉ số phát triển khác ở xà lách xoắn trong giai đoạn sau để làm cơ sở cho việc kết luận bổ sung N, P, K vào PAW15 có thực sự cần thiết cho sự sinh trưởng trong giai đoạn đầu hay không.



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

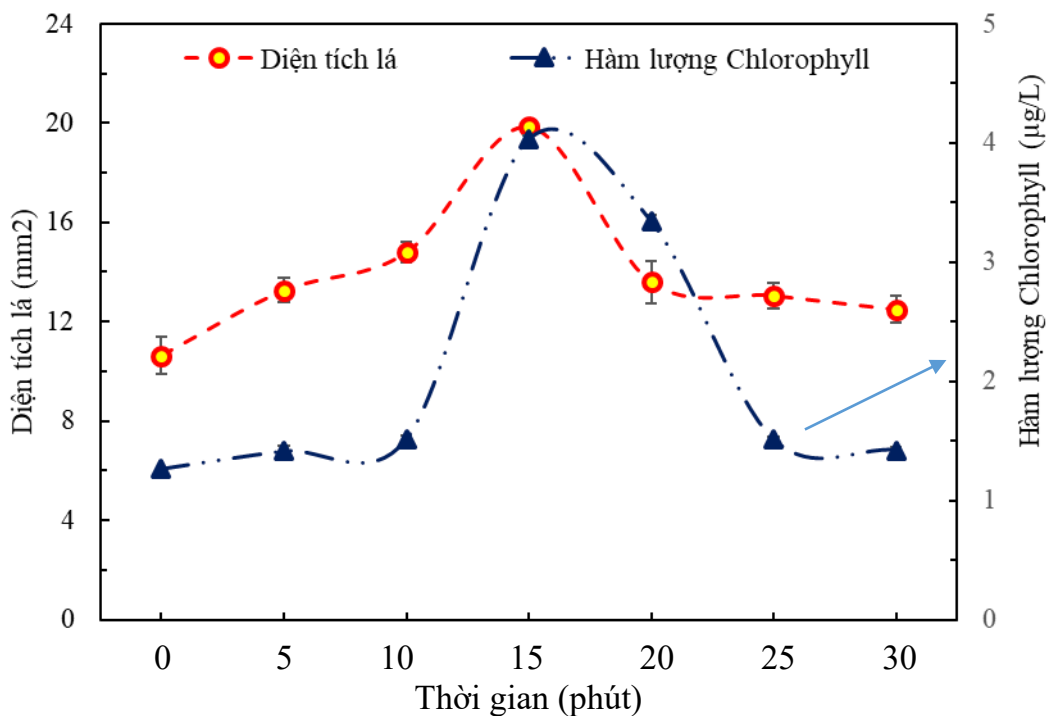


Hình 3.53. Hình ảnh cây con được thu hoạch vào ngày thứ 5 sau khi gieo dưới ảnh hưởng của PAW PAW-15 kết hợp bổ sung hàm lượng K tăng dần từ 0 đến 200 ppm

3.5.2.2. Diện tích lá và hàm lượng diệp lục

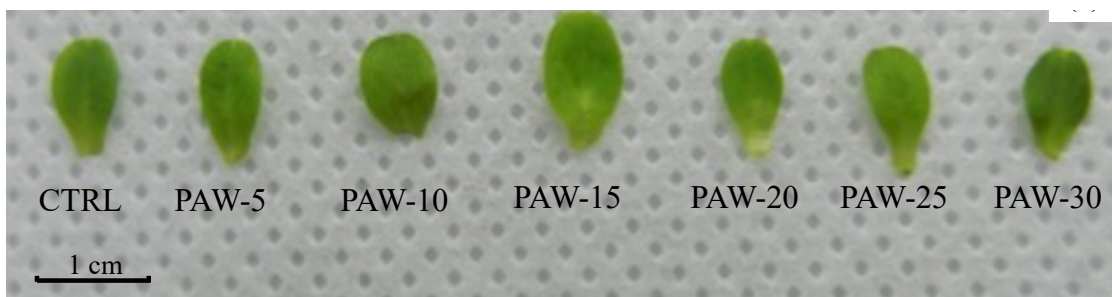
Trong nghiên cứu này, bên cạnh các thông số nêu trên, thì diện tích lá và hàm lượng diệp lục cũng được tiến hành khảo sát.

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 NO_3^- và H_2O_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 (NO_3^- , 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. 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 mm²) 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 tỉ lệ quang hợp hấp thụ ánh sáng tăng, dẫn đến tỉ lệ tích lũy chất khô và năng suất cây trồng tăng lên đáng kể.



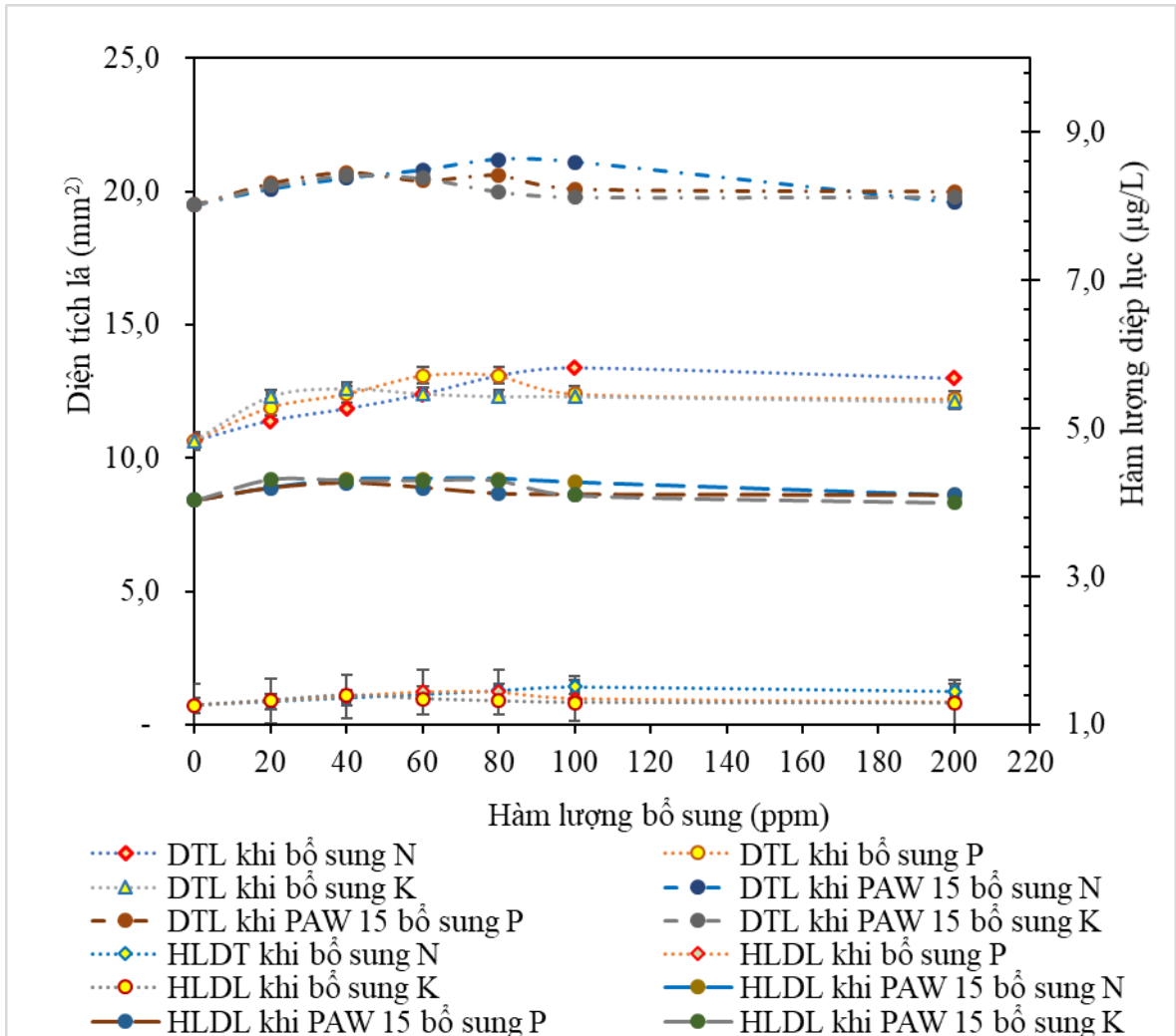
Hình 3.55. Ảnh hưởng của PAW đối với diện tích lá của xà lách xoắn

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:

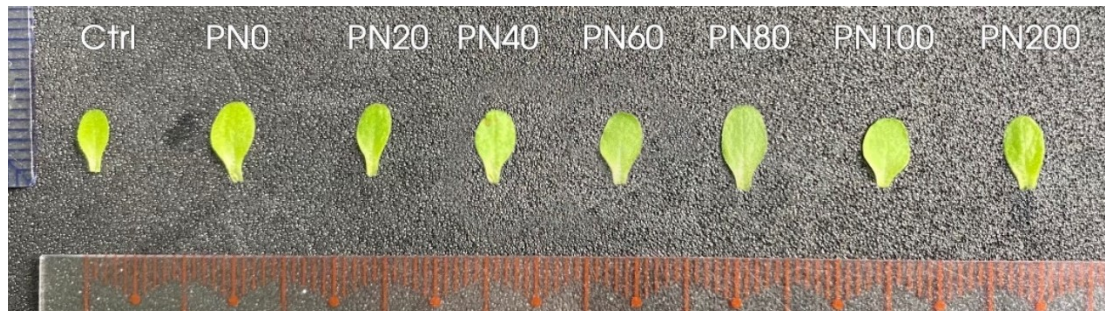
- Đối với việc bổ sung N: Xu hướng tăng nhẹ giá trị diện tích lá và hàm lượng diệp lục ở hàm lượng 0 đến 80 ppm lần lượt từ 3,08% đến 9,23% cho diện tích lá và 4,22% đến 7,20% cho hàm lượng diệp lục, so với mẫu đối chứng chỉ có plasma ở 15 phút. Sau đó, khi tăng hàm lượng N lên đến 200 ppm thì xu hướng 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. 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-15 đến diện tích lá và hàm lượng diệp lục của lá xà lách xoăn ở ngày thứ 7 sau khi gieo ở các hàm lượng N khác nhau



Hình 3.58. Ảnh hưởng của PAW-15 đến diện tích lá và hàm lượng diệp lục của lá xà lách xoăn ở ngày thứ 7 sau khi gieo ở các hàm lượng P khác nhau

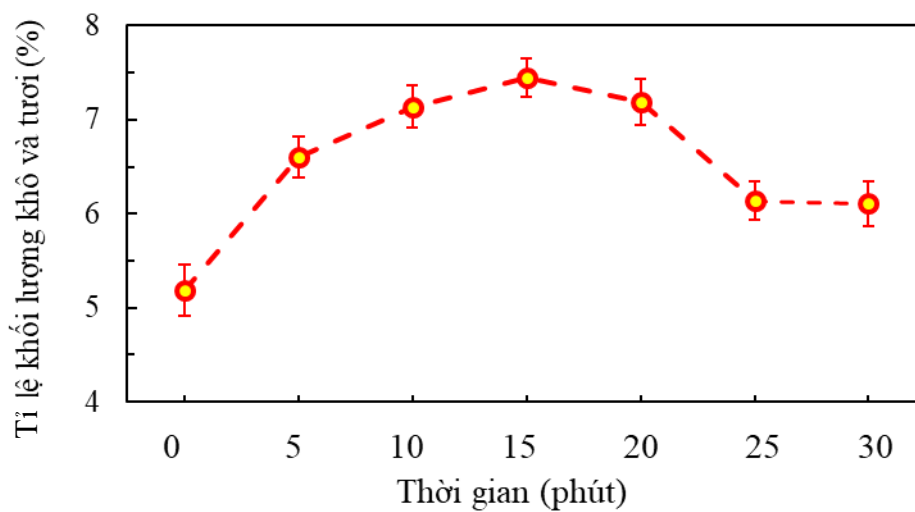


Hình 3.59. Ảnh hưởng của PAW-15 đến diện tích lá và hàm lượng diệp lục của lá xà lách xoăn ở ngày thứ 7 sau khi gieo ở các hàm lượng K khác nhau

3.5.2.3. Tỷ lệ trọng lượng khô/ tươi

Hàm lượng chất khô thông qua việc tỉ 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.

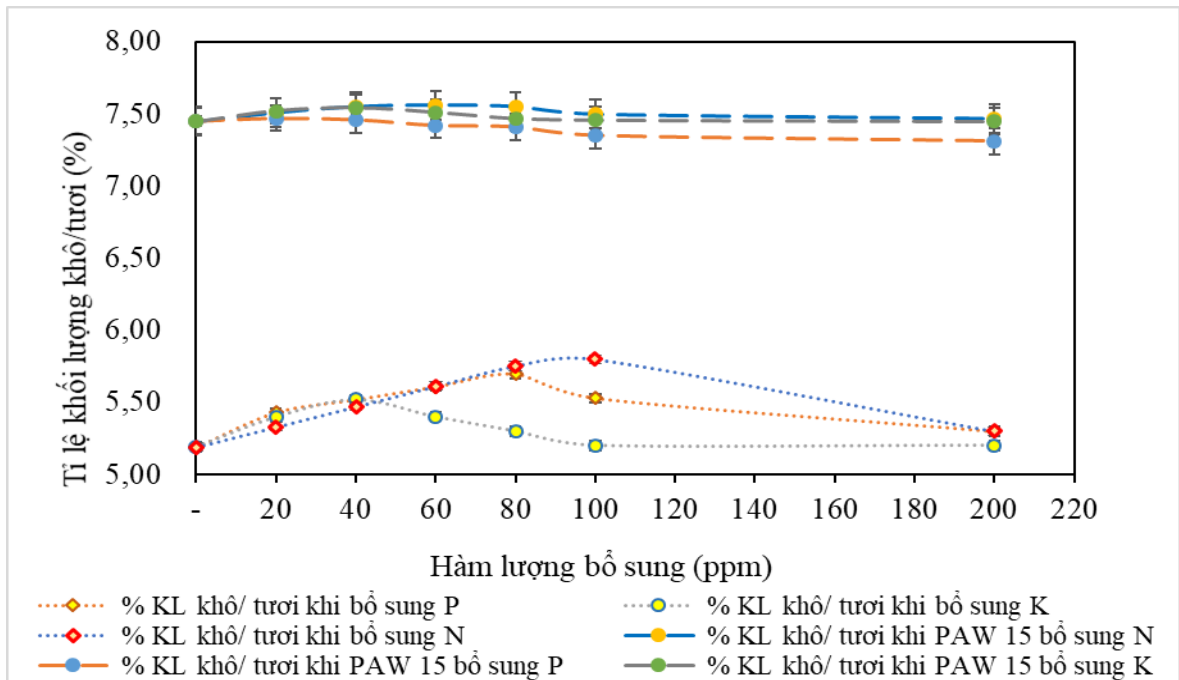
Tỉ lệ khô/ tươi của trọng lượng lá của xà lách xoăn được thể hiện trong hình 3.60 đối với các điều kiện thời gian xử lý PAW khác nhau. Đối với tất cả các điều kiện được khảo sát, các giá trị đo được cho cây được bổ sung bằng PAW với thời gian kích hoạt khác nhau đều cao hơn so với giá trị đo được cho 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. Tỉ lệ trọng lượng lá khô/ tươi của xà lách xoăn ở ngày thứ 7 với thời gian xử lý khác nhau

Hình 3.61 biểu đồ biểu diễn tỉ 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 tỉ lệ này của xà lách xoăn tương quan chặt chẽ với diện tích lá. Sự gia tăng tỉ 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 tỉ 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. 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 (NO_3^- , H_2O_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 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 NH_4^+ cao trong môi trường rễ, đặc biệt khi kết hợp với lượng K^+ thấp, thực vật sẽ bị nhiễm độc 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

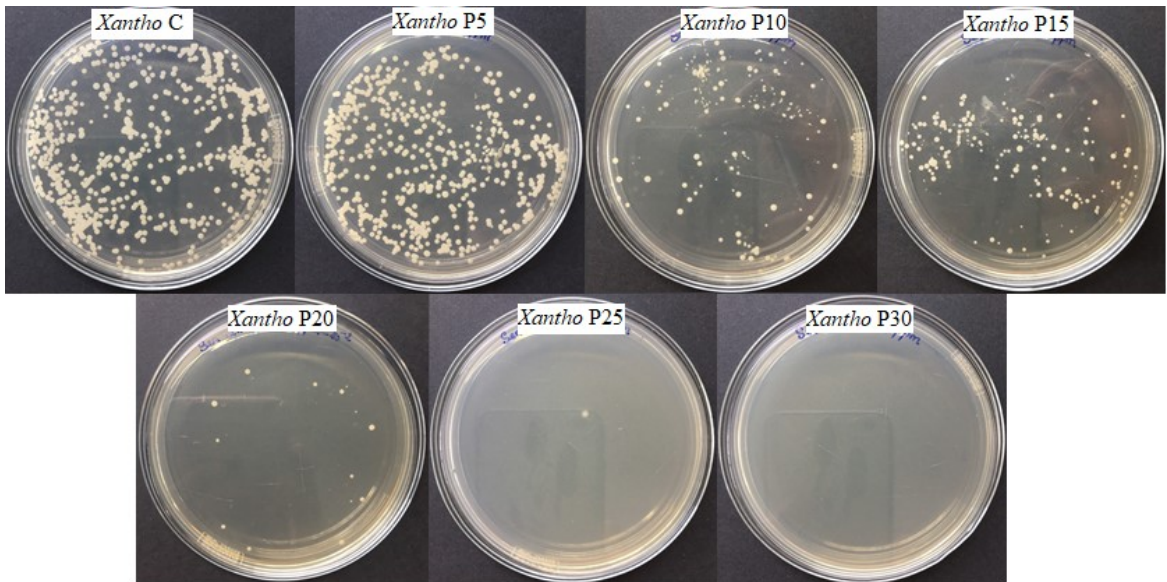
Qua nghiên cứu cho thấy, trong các mẫu PAW theo thời gian thì mẫu PAW-15 cho thấy khả năng sinh trưởng và nảy mầm giai đoạn đầu tốt nhất ở xà lách xoăn trong 7 ngày nghiên cứu. Yếu tố quyết định cho việc này là do PAW chứa các hợp chất của RONS và RNS ở hàm lượng phù hợp, gây ra những thay đổi về hình 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, tỉ 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 tỉ 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 PAW đến *Xanthomonas* spp. 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 3.62.

Hình 3.62 cho thấy điểm MIC của dung dịch tạo bởi PAW 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 mẫu PAW 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 của PAW ở thời gian khác nhau

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

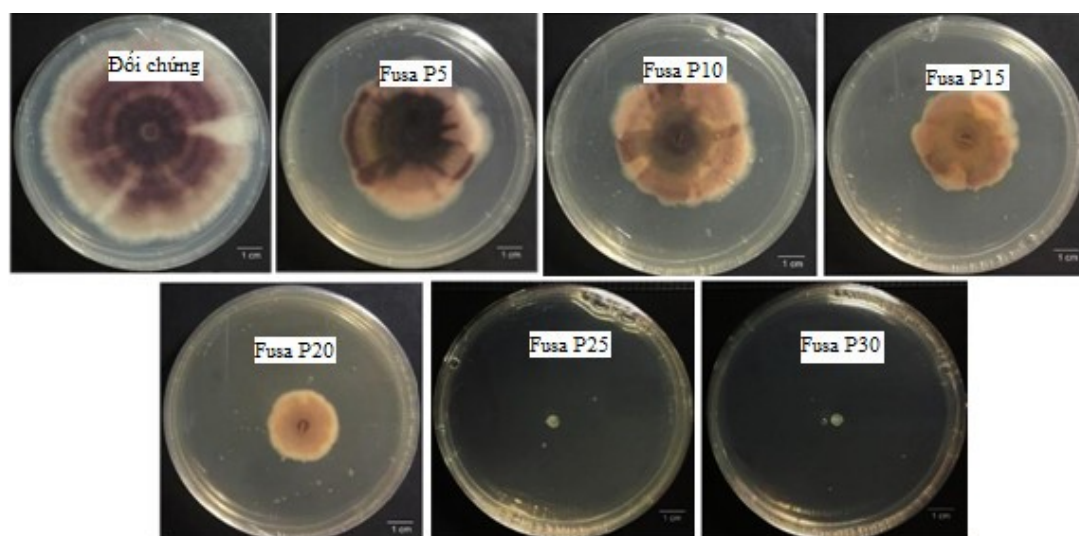
Trong trường hợp xác định hiệu quả kháng khuẩn của dung dịch tạo bởi plasma lạnh dựa vào bán kính vòng kháng khuẩn ở bảng 3.2 thể hiện rõ dung dịch tạo bởi plasma trong khoảng thời gian 15 phút thì vòng kháng khuẩn bắt đầu xuất hiện với bán kính là $2 \pm 0,05$ mm. Thời gian tác động của tia plasma càng 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, tỉ 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 PAW. Kết quả xác định hàm lượng ức chế tối thiểu MIC của dung dịch tạo bởi PAW đến nấm *Fusarium* spp. thể hiện ở hình 3.63.



Hình 3.63. Ảnh chụp các đĩa thạch có chứa mẫu đối chứng và các mẫu PAW ở thời gian khác nhau với *Fusarium* spp.

Hình trên cho thấy dung dịch tạo bởi PAW 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 đối chứng 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 PAW là ở thời gian 25 phút.

Bảng 3.3. Kết quả bán kính vòng kháng nấm của PAW ở thời gian khác nhau

Mẫu	Đối chứng	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 nấm chỉ xuất hiện từ khoảng thời gian 20 phút trở lên. Điều này phù hợp với nghiên cứu trước đây, PAW 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 3.3, có thể thấy PAW 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 dẹt, bề mặt tế bào thô ráp, nhăn 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 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, tỉ lệ nảy mầm cho sự nảy mầm và chỉ số chiều cao thân, chiều dài rễ, hàm lượng diệp lục, tỉ lệ trọng lượng khô/tươi, diện tích lá cho quá trình sinh trưởng trên các tác nhân trong các trường hợp sau: H₂O₂, 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 H₂O₂ 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, H₂O₂ 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 H₂O₂ 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 án 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.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ

1. Ha An Quoc Than, Thien Huu Pham, Duyen Ky Vo Nguyen, Thuong Hoai Pham, Ahmed Khacef, 2022, *Non-thermal Plasma Activated Water for Increasing Germination and Plant Growth of Lactuca sativa L.*, Plasma Chemistry and Plasma Processing, 42, pages 73– 89.

(Tập chí SCI, IF = 3,148).

2. Thân Quốc An Hạ, Nguyễn Võ Kỳ Duyên, Đinh Quốc Hòa, Nguyễn Thành Trung, Phạm Hoài Thương, Phạm Hữu Thiện, 2021, *Ảnh hưởng của nồng độ H₂O₂ đến quá trình nảy mầm hạt xà lách xoăn (Lactuca sativa var capitata)*, Bảo vệ thực vật, 4, 297 (ISSN 2354– 0710)

(Bài báo nằm trong Danh mục tạp chí khoa học được tính điểm của Hội đồng Giáo sư ngành, liên ngành Nhà nước).

3. Thân Quốc An Hạ, Đinh Quốc Hòa, Nguyễn Võ Kỳ Duyên, Phạm Hoài Thương, Phạm Hữu Thiện, 2021, *Khảo sát hoạt tính kháng Xanthomonas spp. và Fusarium spp. của dung dịch tạo bởi plasma nguội trong điều kiện in vitro*, The 20th National Conference of Phytopathological Society of Vietnam V.P.S., page 345– 354 (ISBN: 978-604-60-3373-8).

(Bài báo Hội nghị nằm trong Danh mục Hội nghị khoa học được tính điểm của Hội đồng Giáo sư ngành, liên ngành Nhà nước).



Non-thermal Plasma Activated Water for Increasing Germination and Plant Growth of *Lactuca sativa* L

Ha An Quoc Than^{1,2} · Thien Huu Pham^{1,2} · Duyen Ky Vo Nguyen¹ ·
Thuong Hoai Pham¹ · Ahmed Khacef³

Received: 14 June 2021 / Accepted: 24 September 2021

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2021

Abstract

Non-thermal plasma is widely considered as an effective technology for applications in agriculture. Particularly, numerous reports studies have highlighted the role of plasma-activated water (PAW) for seeds germination, plant growth, stress tolerance, and antibacterial ability. The present study investigated the effects of PAW on lettuce (*Lactuca Sativa* L.) seed germination and seedling growth. PAW was achieved by using an atmospheric pressure dielectric barrier discharge in Ar (50%) –N₂ (40%)–O₂ (10%) gas mixture for treatment time ranging from 5 to 30 mn. The physicochemical properties of PAW (temperature, pH, electrical conductivity, concentrations of nitrate, nitrite, and hydrogen peroxide) were evaluated. Results show that water-activated during moderate time, 10 to 20 mn, contains reactive oxygen and nitrogen species at relevant concentration levels to have active impacts on seed germination and seedling growth. Germination potential significantly increased by about 117%, 56%, and 77% after 15 mn of treatment, for the first 3 days, respectively, compared to control. For long time PAW (25–30 mn), the germination rate is either constant or decreases. Positive effects of PAW treatments were registered on the growth parameters of seedling including stem and root length, leaf weight, leaf area and chlorophyll content, and the vigor of seedlings. Chlorophyll content significantly increased by 220% for PAW-treated 15 mn and by about 165% for PAW-treated 20 mn, respectively, compared with control. Additionally, PAW induce morphological changes on lettuce seeds which are associated with oxidizing species leading to better water and nutrients uptake.

Keywords Plasma activated water PAW · Germination · Seedling growth · *Lactuca Sativa* L.

✉ Thien Huu Pham
thieniams@gmail.com

✉ Ahmed Khacef
ahmed.khacef@univ-orleans.fr

¹ Institute of Applied Materials Science, Vietnam Academy of Science and Technology, 1B TL 29, Thanh Loc Ward, District 12, Ho Chi Minh City, Vietnam

² Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Ha Noi, Vietnam

³ GREMI UMR 7344, CNRS-Université d'Orléans, 14 rue d'Issoudun, BP 6744, 45067 Orléans Cedex 02, France

Introduction

The frequent use of chemical fertilizers to increase crop yields can cause soil degradation, increase production costs, reduce the quality and competitiveness of agricultural products, and also polluting the environment affecting human health. Therefore, it is urgent now to find alternative technologies to ensure high quality of agricultural products, health and safety, while being environmentally friendly. In that field, non-thermal plasma (NTP), due to its reactive nature, has emerged as suitable technology for seed germination, seed disinfection, and plant growth. NTP processing methods have many advantages in agriculture, due to their low temperature operation and short processing times, without causing damage to crops, food, seeds, humans and the environment. Plasma discharges produce reactive neutral species, charged species (electrons, ions), electric fields, and ultraviolet radiation. These elements cause the change in density of reactive oxygen and nitrogen species (RONS), pH, oxidation–reduction potential (ORP), electrical conductivity ..., and affect seed germination, plant growth, and the quality of agricultural product.

Thus, more than 2 decades ago, the topic "Plasma-agriculture" emerged with initially the seeds treatment by low-pressure plasma systems, especially radio-frequency and microwave discharges [1–3]. Although the low-pressure plasma offers the advantage of large volume processing in a homogeneous plasma, it nevertheless requires expensive and specialized equipment. The development of atmospheric NTP sources, especially corona and barrier discharges [4, 5], and other sources involving plasma-activated water (PAW) [6] or pulsed electromagnetic fields [7] has drawn considerable attention as new trends to improve the seeds germination and the plant growth [8]. Usually, the direct treatment of seeds is predominantly performed with dielectric barrier discharges (DBDs) in ambient air and to a lesser extent with other plasma devices like plasma jets or gliding arcs. In such plasmas, the heavy particles (ions, molecules) remain at low temperature making NTP suitable for the surface treatment of sensitive materials. On the other hand, the electron temperature is high enough to produce a variety of species, especially ROS and RNS, which were identified as the key species that induce seed changes. The electric field and the UV radiation produced by the plasma may possibly be effective in seeds treatment.

Plasma treatment can have a variety of effects on the morphology of seeds due to its complex interaction with organic materials and living cells. It was found that germination of several different agricultural species can be tuned by the plasma chemistry. More precisely, the germination can be either accelerated by the improvement of the wettability properties of seeds surface [9] or delayed by creating a plasma-reactive coating on the seeds surface [10] without significantly affecting the percentage of germination. Using a selective gas and plasma conditions, seeds germination was delayed for pea, radish, corn and bean, while the germination was accelerated for soybean and corn. Another consequence of the plasma treatment is to modify the surface properties and to reduce of pathogen/chemical contamination on plant seeds [2, 11]. Under some experimental conditions, the direct plasma discharge in contact with seeds can cause negative effects on the seed cells, namely, cells membrane damage, cells death and proteins degradation [8, 12].

Besides water purification and wastewater treatment [13], the application of PAW in agriculture has also been carried out in many studies for decontamination purposes, germination of seeds, plant growth enhancement, and production of nitrogen-based green fertilizer [14, 15]. Two main methods of PAW production are investigated. One takes advantage of the interactions of gas plasma with the solutions while the other employs direct generation of plasma in liquid [16–18]. Plasma-liquid interactions have been investigated

already by several authors and a review of generation mechanisms and physical characteristics of plasmas generated in contact with liquids was given recently by Bruggeman et al. [19]. Briefly, although there are many plasma-generated species such as superoxide (O_2^-), oxygen and hydroxyl radicals (O, OH), most of them are transient species that react to form long-lived species, namely RONS, as nitrates (NO_3^-), nitrites (NO_2^-), hydrogen peroxide (H_2O_2) and ozone (O_3),

As reported in the literature [20–23], PAW could have a significant impact on seeds germination, plants growth, and nutritional content of the product in various vegetables as demonstrated by several studies. Nitrate is the most important form of nitrogen which is one of the essential nutrients for plants as it is a constituent of amino-acids, proteins, chlorophyll and other metabolites. In addition, hydrogen peroxide (H_2O_2) can activate proteins/genes related to plants growth. It is generally agreed that the bactericidal activity of PAW derives from the combined action of a high positive oxidation reduction potential (ORP) and a low pH [24].

In addition to RONS, contamination of water and/or soil with heavy metals such as Cu, Cd, Cr... can significantly affect seeds germination and plants growth. The toxicity of these elements causing metabolic disorders and growth inhibition varies upon the type of plants and their critical concentration [25–27]. At low doses, some studies reported an opposite effect on some plants as reported by Peralta et al. [28].

In this study, PAW has been utilized to irrigate Lettuce (*Lactuca Sativa L.*) seeds and seedlings from germination to early stage growth. *Lactuca Sativa L.* is known as a domestic short-term vegetable specie cultivated mainly for its fleshy leaves. In eastern medicine, *Lactuca Sativa L.* is also used as pharmaceutical treatment of stomach problems, urinary tract infections, and nerve protection. Moreover, *Lactuca Sativa L.* also has scientific significance as a typical research subject with high sensitivity, rapid germination speed, linear growth, and not very sensitive to pH variations. The germination rate and growth characteristics of *Lactuca Sativa L.*, such as roots and sprouts length as well as dry/fresh plant weight and chlorophyll contents in the leaves, were investigated as function of the characteristics of PAW solutions prepared from demineralized water exposed to DBD plasma in different conditions. To this end, many parameters have been recorded including H_2O_2 , NO_3^- , NO_2^- , ozone (O_3), pH, electrical conductivity, and temperature. Their respective effects on the agronomical parameters are discussed.

Materials and Methods

Plasma Source and PAW Generation

The plasma source particularly designed for injection of reactive species into water and activated the water is a dielectric barrier discharge (DBD) in a cylindrical configuration as shown in Fig. 1. It consists of a quartz tube (26 mm outer diameter, 22 mm inner diameter, 11.3 mm length) wrapped with a 120 mm long copper foil (120 mm long, 0.5 mm thickness) used as electrode. Inside the quartz tube was inserted a copper tube (20 mm outer diameter, 10 mm inner diameter, 300 mm length) serving as second electrode and the feed line of water sample. To generate the plasma, Ar (50%)/N₂ (40%)/10% O₂ gas mixture was supplied into the device by the top of the reactor with a constant total flow of 33 mL/mn. The DBD reactor was powered using a homemade high voltage pulsed power supply delivering 24 kV at a repetition frequency of about 1,5 kHz.

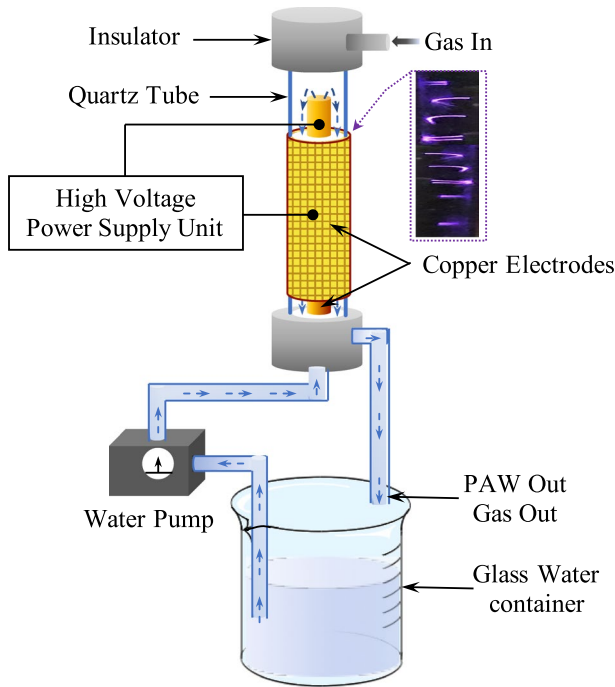


Fig. 1 Schematic diagram of the plasma reactor for water activation

The water sample was introduced into the inner copper tube from the bottom by a chemical dosing pump (BL10-2 BlackStone, Hanna Instruments), flows along the electrode's outer surface to then be directed towards the collecting glass vessel for recirculation in the reactor at a flow rate of 180 mL/min at a dosing frequency strokes per minute of about 120. In each experiment, a volume of 500 mL of distilled water sample was activated by plasma for 5, 10, 15, 20, 25, and 30 min; and labeled as PAW-5, PAW-10, PAW-15, PAW-20, PAW-25, PAW-30, respectively. CTRL, referred to distilled water (DW) without any plasma activation, has pH and electrical conductivity of about 6.9 and 3 $\mu\text{S}/\text{cm}$, respectively. After activation, the liquids are immediately used to water the seedlings or plants.

Evaluation of Physical and Chemical Properties of PAW

The temperature, pH, electrical conductivity (EC), and the concentrations of the reactive oxygen and nitrogen species (RONS) were all measured immediately after PAW generation. The pH and electrical conductivity measurements of DW and PAW were performed using a multi-parameter probe HI-99130 (HANNA Instruments). Nitrate as well as nitrite concentrations have been estimated by photometric analysis using a high-resolution spectrophotometer (Shimadzu UV-1800) and commercially available aqua-test kits (Sera, Germany).

Hydrogen peroxide concentration measurements have been performed using HI-3844 test kit (HANNA instruments). Dissolved ozone (O_3) was measured by HI-38054 chemical test kits (HANNA Instruments) that uses the DPD method.

The reported values of temperature, pH, EC, RONS concentration, are the mean of at least 4 measurements on samples under the same experimental conditions. The corresponding standard deviations are reported in the graphs as error bars.

The use of copper electrode can lead to contamination of the water used in these experiments. DW and PAW analysis using Atomic Absorption Spectroscopy (iCE 3500 AAS Thermo Scientific) has shown that neither Cu^+ nor Cu^{2+} are present in the solutions even for plasma treatment times exceeding 60 min (2 times higher compared to the treatment time used in the present study).

Seeds Germination and Plants Growth Conditions

Seeds of *Lactuca Sativa L.* under that study were collected in the orchard in Cai Rang district of CanTho province in Vietnam and then were stored in the dark at room temperature before the experiments. The germination tests were conducted in petri dishes onto Whatman #1 filter paper. The seeds were divided into seven groups: control (CTRL)-watered with distilled water, and PAW-5 to PAW-30. Each group was represented by three replicates (20 seeds each) and all the experiments were repeated five times under the same experimental conditions to confirm the reproducibility of results.

The seeds were germinated under controlled conditions in a chamber at temperature of about (30 ± 2) °C, light for 16 h, and dark for 8 h. Before the germination tests, *Lettuce*. seed samples were soaked for 2 h in distilled water and in PAW treated for 5 to 30 min, respectively. Then, the samples were watered with 1 mL of PAW at 24 h interval and incubated for 7 days. The number of seeds germinated was observed and recorded every day. The seeds are considered to be germinated when embryos emergence (germ coleoptile) reaches approximately 2 mm length. The germination rate, defined as the ratio of the number of germinated seeds to the total number of seeds, was followed during the first 3 days. The morphological changes on *Lactuca Sativa L* seeds before and after 2 h in PAW were observed with Field Emission Scanning Electron Microscope (FE-SEM, Hitachi-S4800, Japan).

In order to evaluate their water uptake, samples of 100 seeds are weighed using an analytic balance with three decimals before and after being soaked in petri dishes for seven PAW conditions. After 2 h, each sample of 100 seeds were placed on filter paper to absorb all the remaining water outside the seed and then re-weighed. Experiments was repeated 5 times. The average 1000-seed weight was then determined as 10 times the 100-seed weight (Vietnamese standard TCVN 1700:1976 on wet seeds).

From the 3rd day of sowing, stem and root length were measured. Stem length is defined as the length from the plant base to the top of the highest leaf, and root length is defined as the length from the plant base to the top of the longest root. After 7 days, the fresh plants or part of the plants are harvested and immediately weighed. The fresh plants are dried at 150 °C for 2 h then at 80 °C until their weight no longer changes.

The chlorophyll content in leaves was measured by the method already published by Lichtenthaler and Wellburn [29]. Briefly, total amount of chlorophyll was extracted from 1 g of fresh leaves tissue collected into a Duran bottle containing 50 ml acetone (70% v/v) and kept in a dark area during 24 h. Following this, the mixture was filtered with Whatman #1 filter paper. Absorption spectra of chlorophyll a (C_a) and chlorophyll b (C_b) at wavelengths of 645 nm and 662 nm were measured using the high-resolution spectrophotometer Shimadzu UV-1800 that has been used previously for NO_2^- and NO_3^- measurements. The concentrations (in $\mu\text{g/mL}$) of C_a and C_b plant extract were calculated using the specific

absorption coefficients in the following formula where A_{662} and A_{645} are the absorbance of chlorophyll values measured at 662 nm and 645 nm, respectively.

$$C_a = 11.75A_{662} - 2.35A_{645}$$

$$C_b = 18.61A_{645} - 3.96A_{662}$$

The total chlorophyll content was expressed as follow:

$$\text{Total chlorophyll} = 8.02A_{662} + 20.2A_{645}$$

Statistical analysis of the data is expressed as the mean value \pm standard deviation (SD) of the measurements made on five replicate experiments.

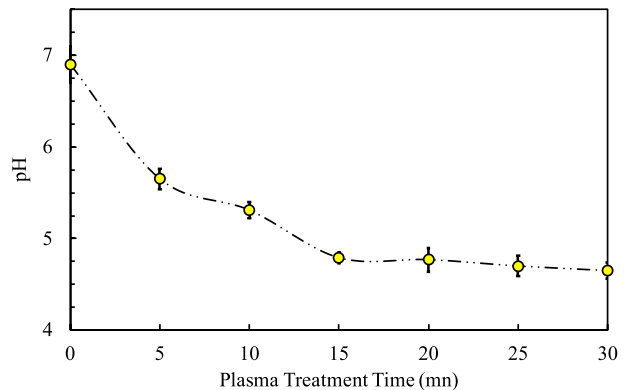
Results and Discussion

Physical and Chemical Properties of PAW

To describe the changes of pH and conductivity caused by air plasma in water Lukes et al. [30] proposed a general mechanism including both gas-phase reaction pathways and liquid-phase reactions. The NO that is formed in air plasma by gas-phase reactions of dissociated nitrogen and oxygen rapidly reacts with oxygen or ozone to yield NO_2 . The nitrogen dioxide can subsequently dissolve in water, leading to nitrite NO_2^- and nitrate NO_3^- via an electron capture by nitrogen dioxide NO_2 or oxidation by nitric oxide NO. The pH of the solution is then reduced, which, along with an increase of the solution conductivity, favors the disproportionation of nitrites into nitrates and nitric oxide. The formation of nitrate may also proceed via the liquid-phase reaction of NO_2 with $\text{OH}\cdot$ radicals to form peroxynitrous acid. On the other hand, in the presence of ozone, nitrites are rapidly oxidized to nitrates and oxygen, thereby eliminating their content in water. It was demonstrated [31], that a large part of the conductivity increase can be attributed to the pH change, the role of nitrates and nitrites was, however, found to be small and other unidentified ions were proposed to contribute to the conductivity changes.

The pH variation of PAW as function of plasma activation time is shown in Fig. 2. An acidification was induced by DBD treatment of water resulted in a quick decrease of pH

Fig. 2 Course of pH in DW after plasma treatment at different exposure time



values from initial value of 7 pH units to less than 5 units within the first 15 mn of plasma treatment, followed by a quasi-steady range of approximately 4.7 units within 30 mn. Similar results were observed by Ma et al.[32] after 10 mn of activation using a single electrode non-thermal atmospheric plasma jet working in Ar/O₂ carrier gas. Oehmigen et al. [24] also observed a similar decrement in pH up to 3 units after 30 mn of treatment of physiological saline (water + NaCl) using a surface DBD. The acidification of the water is the result of the formation and accumulation of active ions in the solution, namely nitrite (NO₂⁻) and nitrate (NO₃⁻) ions as reported in the literature [33, 34]. These ions easily combine with H⁺ to form HNO₂ and HNO₃ acids. The decrease in pH values and the formation of acidifying compounds in PAW may vary according to the plasma reactor design (DBD, corona, gliding arc discharges), voltage and current, and working gas used for plasma generation [16, 33, 35].

The electrical conductivity can provide information on both nature and concentration of ions present in the solution. The variations of electrical conductivity and temperature of PAW as function of plasma activation time are shown in Fig. 3. Except for the first five minutes, the electrical conductivity increases linearly with increasing the plasma activation time in the range covering values from 10 to 18 μS/cm for 10 and 30 mn, respectively. PAW temperature increased by only a few degrees after 30 mn of plasma processing, 4 °C for these experiments, showing that this plasma device is compatible for use in agriculture where the temperature is a sensitive parameter.

Although there are many plasma-generated species such as hydrogen hydroxyl (OH), nitric oxide (NO), nitrogen dioxide (NO₂), peroxyxynitrite (O=NOOH), superoxide (O₂⁻), most are transient species that react to form the end products H₂O₂, NO₂⁻, and NO₃⁻ [36, 37]. Since the time between PAW generation and irrigation of seeds and seedlings is long enough (tens of minutes), only stable species contained in PAW may be involved in the development and growth of plants. However, a positive role of the short-lived species on plants has already demonstrates [38]. Figure 4 shows the dependences of NO₃⁻, NO₂⁻, and H₂O₂ concentrations in distilled water on the plasma treatment time. The NO₃⁻ concentration was 0 mg/L before plasma treatment (DW) and proportionally increased with the plasma treatment time. It was approximately 20 mg/L in PAW-5 sample and reach up to 60 mg/L in PAW-30 sample. Compared to nitrate, the nitrite concentration was very low and a maximum value of about 2.5 mg/L was measured after 30 min of treatment. The low concentration of NO₂⁻ could be explained by the fact that the transformation of NO₂⁻ into NO₃⁻ is accelerated in acidic conditions [24].

Fig. 3 Electrical conductivity and temperature of PAW as function of plasma treatment time

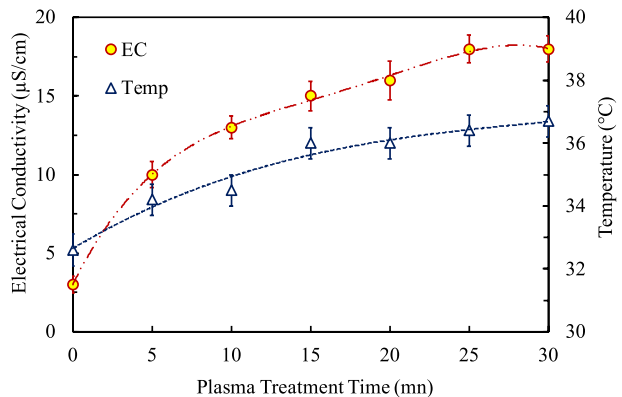
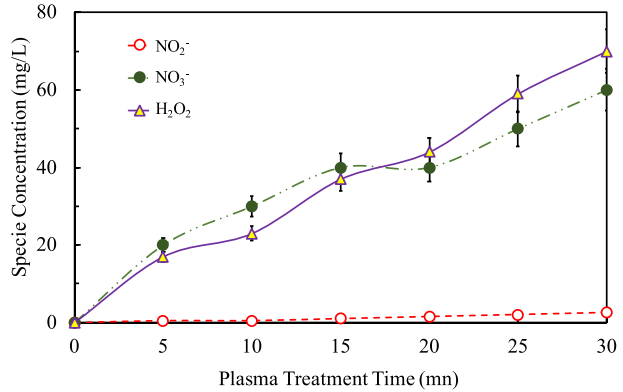


Fig. 4 Concentration of nitrite, nitrate, and hydrogen peroxide in water as function of plasma treatment time



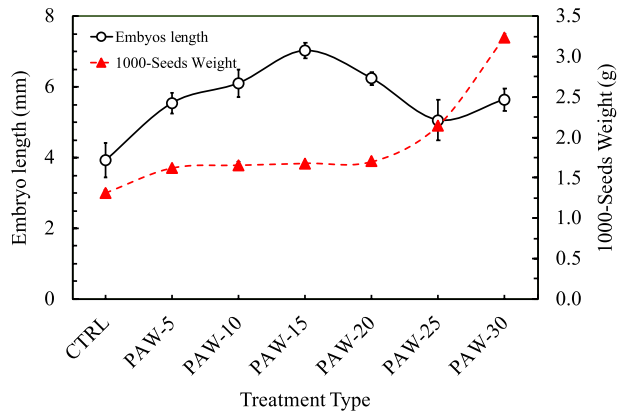
As shown in Fig. 4, the concentration of H₂O₂ exhibits a similar trend to that of NO₃⁻ as the plasma treatment time increases: from 0 mg/L in the control sample to the highest value of 70 mg/L at the highest plasma treatment time of 30 mn. The formation of H₂O₂ in water is mainly derived from two sources: (1) H₂O₂ formed in the gaseous phase and transferred to water and, (2) generated directly in the liquid phase due to recombination of dissolved OH radicals from gas phase and/or reaction between other reactive oxygen species in the liquid phase. Therefore, when the plasma treatment time increases, the more OH as well as H₂O₂ are produced. In addition, small amounts of O₃⁻ were measured under similar operating conditions (data not shown). The measured concentrations of O₃⁻ do not exceed 0.15 mg/L for 30 mn of treatment.

Germination and Seedling Growth

Effect of PAW on Seeds Germination

Figure 5 shows the seeds germination indicators (embryos length and seed weight) for different PAW conditions. For comparison, the 1000-seed weight was about 0.83 g for dry seeds. We note that for all cases, the seed mass (1000-seed weight in grams) soaked with PAW is higher than that of CTRL sample (an increase between 24 and 147% is observed).

Fig. 5 Effect of PAW on indicators of seeds germination (embryos length were measured after 24 h and 1000-seed weight after 2 h of soaking)



Although the weight of seeds soaked with PAW-5 to PAW-20 increases slowly from (1.62 ± 0.02) g to (1.79 ± 0.01) g, it increases dramatically for PAW-25 and PAW-30 conditions reaching (2.15 ± 0.02) and (3.24 ± 0.04) g, respectively. It means that we may create best conditions for seeds to germinate because, mature seeds are usually very dry and need to absorb a substantial amount of water, equivalent to their dry mass, before germination can begin [39].

The length of embryos indirectly represents the rate of seed growth. As shown in Fig. 5, the control sample lead to the shortest embryo length compared to all samples in other conditions. This demonstrates that PAW has a significant impact on germination and seed development. The embryo length of the seeds increases from (3.92 ± 0.49) mm to (7.02 ± 0.22) mm for CTRL to PAW-20 samples, respectively and then decreases to $(6.24 \pm 0.0.19)$ mm and (5.06 ± 0.58) mm for PAW-25 and PAW-30, respectively. The decrease of embryo length may be attributed to the high water uptake leading to improper re-formation of polysaccharide bridges between cellulose fibers in the cell wall, resulting in cell damage, disruption and death [40].

Different effects of PAW on plant growth are governed by various combined factors such as plant species, type of plasma, treatment time, type of water, experimental conditions [41]. Therefore, the relationship between the physicochemical properties of PAW and the internal changes of the seeds should be clarified to demonstrate the positive effect of PAW on seed germination. For more details on the effect of PAW on the seed germination, germination rate of seeds was monitored during the first 3 days after sowing. Figure 6 shows the germination rate of *Lettuce* seeds watered with DW (CTRL) and PAW-5 to PAW-30. Except for samples watered with PAW-25 and PAW-30, it is shown that the use of the plasma-activated water increases the germinability of the seeds and the germination rate differs from day to day. After a day of sowing, seeds germination rate of about 22% is reached when PAW-15 was used, whereas, this rate remains constant around 10% for the other conditions. On the second day, the germination rate increased sharply (between 3 and 4 times compared to values achieved the first day). Finally, after 3 days, the germination rate increases steadily for CTRL to PAW-15 samples to reach the highest value of about 85% for PAW-15 sample. Surprisingly, this trend was not observed for long time plasma activated water (25 and 30 min) where the germination rate stay unchanged for the first two days or decreases from 48 to 40% for the 3rd day, respectively.

The trends of growth rate of seed between samples watered with DW and PAW at different time (from 5 to 30 mn) in the first 3 days was similar to that of embryos length shown in Fig. 5. This behavior could be explained by the effect of the chemical composition, ratio, and concentration of RONS in PAW samples at different treatment times. Notably, the pH of the PAW solutions is very important for germination of seeds and growth of seedling processes because it can affect the enzymes activity as reported by Puac et al. [42] in their studies regarding *Paulownia tomentosa*. High acidic environment for seeds will activate the enzyme pectinase which cuts the polysaccharide bridge between the cellulose fibers in the cell wall. The consequence is to dilate the cell surface and increase water uptake. In our conditions, significant change of pH was observed between CTRL samples (6.9) and PAW samples (from 5.65–4.65) and possible deteriorious effects could appear into the seeds. These pH values are out of the pH acceptable range for lettuce growth (6.5–5.8) as stated by Holmes et al.[43].

It is widely recognized that the NO_3^- is considered as a primary nitrogen source for most plant species. In plants, nitrate reductase (NR) catalyzes the conversion of NO_3^- to NO_2^- , resulting in nitrogen-containing metabolites such as amino acids and NO [44]. In various plant species, NO_3^- has been proven to enhance seed dormancy release and subsequent

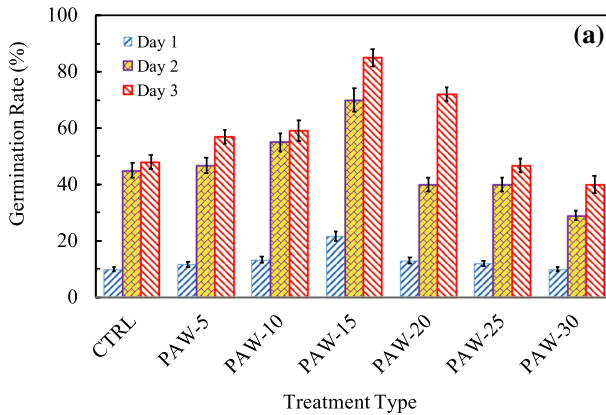


Fig. 6 **a** Seed germination rate of *Lactuca Sativa L.* in the first 3 days and **b** seedling growth when watered with PAW-15

germination [45, 46]. In addition, nitrate—a signaling molecule in plants [46]—produced in PAW has a significant role on seed germination. As shown in Fig. 4, NO_3^- concentration is between 20 and 60 mg/L for PAW-5 to PAW-30, respectively. These results are consistent with those published by Sera et al. [3] for wheat and oat germination, and those of Padureanu et al. [47] for *Lactuca Sativa L.* germination, especially for PAW-15 samples containing about 40 mg/L of NO_3^- . In these studies, the optimum germination was observed for nitrate concentration in water of about 40 mg/ and 54 mg/L, respectively.

Hydrogen peroxide (H_2O_2) is another element that may influence seed germination and plant growth. In high concentrations, H_2O_2 negatively affects negatively plants resulting in abiotic stress to plant cells [48], while at moderate amounts its role is rather beneficial as demonstrated by Barba-Espin et al. [49] for seed germination and early growth of pea seedlings and by Ismael et al. [50] for growth and development as well as fruits quality.

Effect of PAW on the Morphological Changes on *Lactuca Sativa L* seeds

The morphological changes on *Lactuca Sativa L.* seeds before and after 2 h in PAW were observed with SEM. Figure 7 shows SEM images of seed surface after 2 h of soaking with distilled water (CTRL), PAW-15, and PAW-30, respectively. The images revealed that the surface structure of seeds changed sharply as a result of water plasma treatment conditions. Specifically, in the PAW-soaked seed sample, the surface structure of the seed was

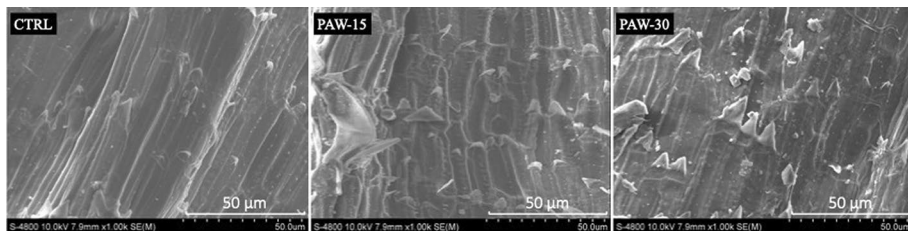


Fig. 7 Scanning electron micrograph (SEM) images of seed surface after 2 h of soaking with distilled water (CTRL), PAW-15, and PAW-30 with scale bar of 50 μm

deformed and partially destroyed, the edge lines on the seed epidermis gradually disappeared, and peeling marks appeared. This observation is similar to the Bafoil et al. [51] studies on the modification of spinach seeds surface by plasma. PAW changes the grain structure through the effect of RONS which could oxidize amino acid side chains [8, 52]. After PAW-30 treatment, the seed surface exhibited high degree of modification.

One of the main causes of slow germination is that the seed coat is impervious to water, not oxygen-permeable, or the shell is so hard that the embryo cannot sprout. The appearance of cracks flaking on the surface of seeds soaked with PAW allows water and oxygen molecules to quickly penetrate the seed and then helps to shorten the germination time. Among the process affecting the seed germination, the interaction of ROS contained in PAW (especially H_2O_2 and OH species) and the seed surface is one of the most significant as demonstrated by Lariguet et al. [53], Weitbrecht et al. [54], and Ogawa and Iwabuchi [55]. These species contribute to increase the seed germination by acting on the enzymes encoding regulation, cracking the seed shell through cleavage of polysaccharides of the cell wall to loosen it, and by oxidizing compounds that could inhibit seed germination such as phenols and alkaloids often present in mature seedpods.

Effect of PAW on Seedling Growth

The effect of plasma-activated water at different treatment times on stem and root lengths of *Lactuca sativa L.* seedlings on day 3 was illustrated in Fig. 8. When Comparing the effect of PAW on the stem length measured on the 3rd day after sowing, the sample watered with PAW-treated 15 mn exhibit a highest stem length corresponding to an increase of about 25% relative to control sample. For the other processing conditions, no significant differences on stem length were recorded (between (3.33 ± 0.35) mm and (3.47 ± 0.43) mm) expected for the PAW-30 sample for which the stem length slightly decreases by about 36% (from (3.21 ± 0.36) mm to (2.07 ± 0.27) mm).

As shown in the picture of Fig. 8b, the roots morphology is not uniform and some of them have more or less numerous and long branches which makes it difficult to conclude on the effect of PAW on the length of the roots. When comparing the roots shape with the naked eye, we observe that the root in the plants using distilled water and PAW-5 is thin, has less branches, and is longer than the roots of the remaining samples. The roots of PAW-10 to PAW-30 samples are shorter, thicker, and have more secondary roots or branches especially for the sample watered with PAW-15. The root length was not a decisive factor for the growth and quality of the leafy plants. During germination, the seed get enough nutrients from stored nutrients inside the seed for the developing embryo. After

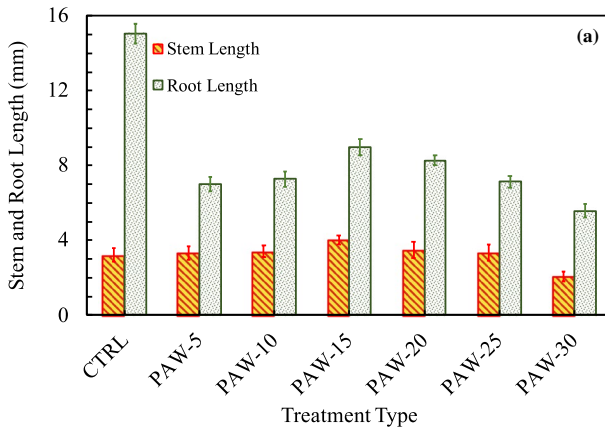


Fig. 8 Effect of PAW on *Lactuca sativa L.* cultivation: **a** stem and root lengths on 3th day, and **b** image of seedling harvested on 7th day after sowing

the germination stage, the seedlings need more external nutrients for plant development. In plasma-activated water, NO_3^- is not only a signal molecule but also a substance that can indirectly add nutrients to seedlings. Thus, the seedlings in all PAW samples have higher growth indexes compared with control sample.

Even if any comparison of root lengths is tricky to make we can note that the root length of *Lactuca sativa L.* watered with distilled water (CTRL) was nearly two times higher in comparison with samples watered with PAW-treated for 5–20 min. As the plasma treatment time increases, the root length, which follows similar trend that of seed germination rate reach a maximum of about (8.97 ± 0.43) mm for PAW-15 sample. Although nutritional needs in each plant species vary with different developmental stage, it seems that the concentration of the chemical composition in PAW-15 is suitable for *Lactuca Sativa L.* during its germination and developmental stages.

RONS control many different processes in plants, including growth and development. Many studies show that H_2O_2 creates proteins involved in plant signaling and growth that help with cell elongation, division, and control cell cycle [50]. When H_2O_2 is absorbed into the cell, it produces O_2 for better cellular respiration in the mitochondria and metabolic processes [56]. However, high H_2O_2 concentration can cause DNA damage resulting in double-strand breaks in the genome and affecting cell viability [57] which may be the cause of the loss of energy yield of seedlings. In vivo, H_2O_2 reacts with endogenous

substances in the cells and produces a brown precipitate in the roots or leaves [58]. When comparing the root morphology of the two seedlings at PAW-5 and PAW-30, we observe that the roots of the seedlings treated with PAW for 30 mn had a higher trace intensity of H_2O_2 (the dark brown color appeared at the root tip) compared to the treated seedlings in PAW-5. This proves that the amount in the PAW-30 sample is too much compared with the required level of the seedling. The PAW-15 sample has a concentration of H_2O_2 suitable for the growth of seedlings to help plants be tall, firm, and the taproot grows fast and grows more auxiliary roots to help plants absorb nutrients as well as photosynthesis.

The chlorophyll content of *Lactuca sativa L.* leaves is strongly correlated to the leaves area. It is a key component in the process of photosynthesis which sustains plant life and produces oxygen and nutrient. The effect of PAW treatments on the area and chlorophyll content of *Lactuca sativa L.* leaves at the 7th day after sowing is shown in Fig. 9. At this early stage of development, the leaf shape can be approximated by an ellipse. The largest area and darkest color of the leaves were observed for PAW-activated for 15 mn sample as compared to the others samples (Fig. 9(a)). The leaf area in PAW-15 sample was nearly two times larger than that in control sample (19.86 ± 0.21) mm². This value is one of indicators to determine the quality of vegetables. Leaves are photosynthetic organs containing chlorophyll pigments with chloroplasts. Light energy is absorbed by their pigments and transferred to the carbon-fixation reactions (commonly called dark reactions) to create organic matter for plants. In addition, chloroplasts carry out a number of other functions, including fatty acid synthesis, much amino acid synthesis, and the immune response in

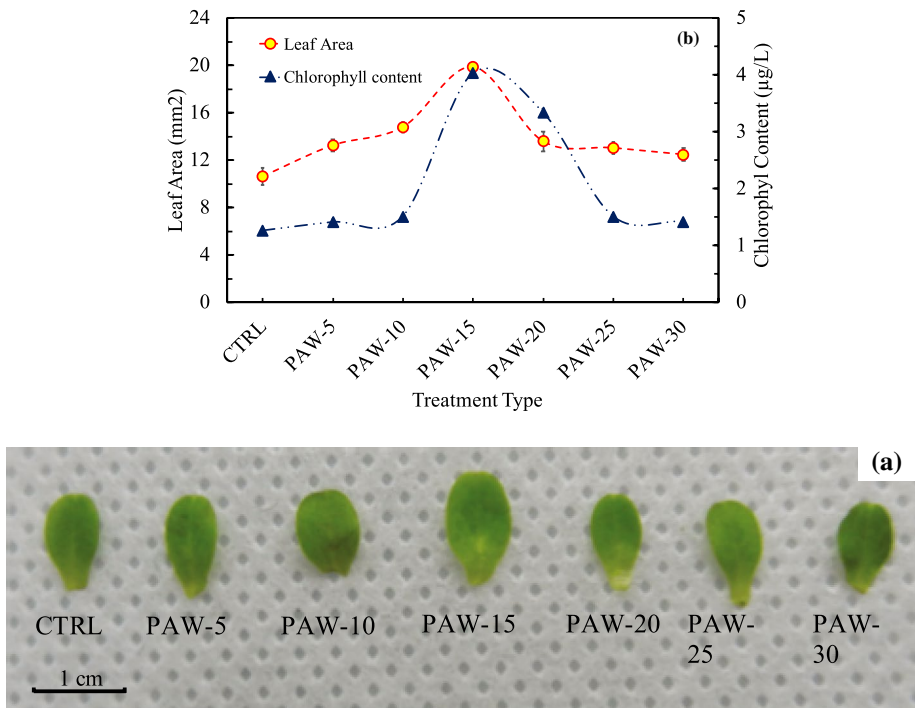


Fig. 9 Effect of PAW on **a** leaves area and **b** chlorophyll content of *Lactuca sativa L.* leaves at the 7th day after sowing

plants. Therefore, increased leaf area demonstrated an increase in photosynthetic rate to absorb light, leading to a significant increase of the dry matter accumulation rate and crop yield.

In addition to leaf area, chlorophyll content is a key component in determining photosynthesis rate and dry matter production; it also serves as a photosynthesis indicator in agriculture [59]. The chlorophyll content in the leaves follows similar trend as that of the leaf area and the maximum leaf area correspond to the maximum of chlorophyll content in leaves as shown in Fig. 9(b). It was found that as the treatment time increase, the chlorophyll contents of leaves increase slightly as compared to the corresponding control sample (+20%), except for PAW activated 15 and 20 mn for which the chlorophyll contents were significantly higher. Values as high as $(4.03 \pm 0.03) \mu\text{g/L}$ and $(3.43 \pm 0.06) \mu\text{g/L}$ were measured for PAW-15 and PAW-20 samples, respectively. These values are to be compared with $(1.26 \pm 0.02) \mu\text{g/L}$ which corresponds to chlorophyll content obtained for the control sample. This behavior clearly demonstrated the positive effect of RONS species, especially NO_3^- and H_2O_2 , on the enzyme producing chlorophyll that interact with substract in plant growth process [60]. Nitrate is a key component of the photosynthesis process, which sustains plant life and produces oxygen and nutrient. Without nitrates, the chlorophyll concentration in leaves is reduced, causing leaves turn pale green or yellow. By having the highest chlorophyll concentration, largest leaf area, darkest color, the sample treated with PAW-15 have a better quality than the other samples. The chlorophyll concentration in leafy green vegetables is a significant quality indicator because by degradation, the color of the leaves changes, resulting in a loss in product quality [61]. RONS species (NO_3^- , NO_2^-) promotes the formation of active photosynthetic pigments by increasing the amounts of stromal and thylakoid proteins in leaves [62, 63] as well as by increasing the formation of chloroplasts during leaf growth.

The leaf weight of *Lactuca sativa L.* is strongly correlated with the leaf area. The dry matter of vegetables consists of biomolecules (lipids, proteins, and carbohydrates), minerals, vitamins, and phytonutrients with the exception of water. Therefore, the relationship between dry weight and fresh weight of the leaves show how much organic matter (carbon) is accumulated in plants. The dry-to-fresh ratio of leaf weight of the lettuce is shown in Fig. 10 for different PAW-treated time conditions. This ratio indicator is generally used to

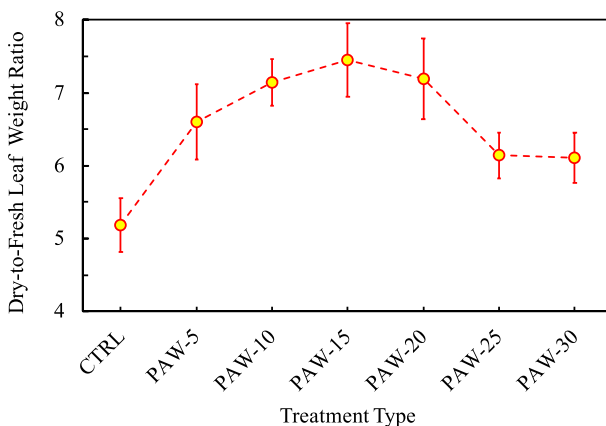


Fig. 10 Ratio of dry to fresh leaf weight of *Lactuca sativa L.* at the 7th day after sowing as function of plasma treatment time

evaluate the quality of the vegetable and means that the higher ratio indicates the better quality of vegetable. For all conditions explored, values registered for plants watered with PAW-activated from 5 to 20 mn were higher than those registered for control sample. For example, the ratio values were (5.19 ± 0.37) for control sample, increase from (6.60 ± 0.52) to (7.45 ± 0.50) for PAW-5 to PAW-20 samples, and then decrease to (6.11 ± 0.34) for PAW-30. Taking into account the associated measurement uncertainties, the ratio curve seems to present a “plateau” at a value of about 7.3 for PAW-activated time between 5 and 20 mn. These findings show that the PAW-activated time significantly affects the seedling growth. Indeed, the nutrient or mineral content of foods, animal feeds or plant tissues are often expressed on a dry matter basis, i.e. as a proportion of the total dry matter in the material. Therefore, when formulating a diet or mixed animal feed, nutrient or mineral concentrations are generally given on a dry matter basis.

Conclusion

This study have focused on the effect of atmospheric pressure non-thermal plasma-activated water on lettuce (*Lactuca Sativa L.*) plant development. The water composition, which is strongly plasma treatment time-dependent, plays a key role in seed germination and seedling growth efficiency. It is evidenced that the DBD reactor can be used to selectively produce RONS species (NO_3 , NO_2 , O_3 , and H_2O_2) into water at sufficient amounts at atmospheric pressure and room temperature. These species are mainly involved in cell metabolic processes, and act as signaling molecules to stimulate seed germination and plant growth at the early stage. Results show that the water uptake by seeds, seed germination and vigor of seedlings as well as seedlings length and weight all improved after plasma-activated water treatment in appropriate conditions, compared with control samples. The optimum seed germination and seedling growth efficiencies were observed for water-activated during moderate plasma treatment time, between 10 and 20 mn, corresponding to the amounts of nitrate and hydrogen peroxide into the water in the range (30–40) mg/L and (23–44) mg/L, respectively. For the other processing time conditions, the growth parameters were either unchanged or undergo negative effects du to abiotic stress to plant cells resulting in the cessation of growth. PAW have positive effect on enhanced seed germination and early growth plant for *Lactuca sativa L.* However further studies are required in order to clarify the mechanism responsible for the enhancement of growth characteristics of seeds investigated in this paper.

Acknowledgements This Research is supported by Vingroup Innovation Foundation (VINIF – Vietnam), the Applied Plasma and Pollution Control Laboratoy of Institut of Applied Material Science (IAMS, Vietnam), and the collaboration with GREMI Laboratory of CNRS-Orleans University (France).

References

1. Filatova I, Azharonok V, Kadyrov M, Beljavsky V, Gvozdzov A (2011) Shik, Antonuk A. Rom J Phys 56:139–143
2. Basaran P, Akhan U (2010) Innov Food Sci Emerging Technol 11:113–117
3. Sera B, Spatenka P, Sery M, Vrchotova N, Hruskova I (2010) IEEE Trans Plasma Sci 38:2963–2967
4. Bogaerts A, Neyts E, Gijbels R, van der Mullen J (2002) Spectrochim Acta 57:609–658
5. Lu P, Cullen PJ, Ostrikov K (2016) In: Misra NN, Schluter O, Cullen PJ (eds) Cold plasma in food and agriculture: fundamentals and applications, Acad Press

6. Takahata J, Takaki K, Satta N, Takahashi K, Fujio T, Sasaki Y (2015), *Jpn J Appl Phys* 54: 01AG07
7. Moon J, Chung H (2000) *J Electrostat* 48:103–114
8. Bailly C, El Maarouf BH, Corbineau F (2008) *CR Biol* 331:806–814
9. Jiang J, He X, Li L, Li J, Shao H, Xu Q, Ye R, Dong Y (2014) *Plasma Sci Technol* 16:54–58
10. Volin JC, Denes FS, Young RA, Park SMT (2000) *Crop Sci* 40:1706–1718
11. Khamsen N, Onwimol D, Teerakawanich N, Dechanupaprittha S, Kanokbannakorn W, Hongesombut K, Srisophon S (2016) *ACS Appl Mater Interfaces* 8:19268–19275
12. Wojtyła L, Lechowska K, Kubala S, Garnczarska M (2016). *Front Plant Sci*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00066>
13. Rezaei F, Vanraes P, Nikiforov A, Morent R, De Geyter N (2019). *Materials*. <https://doi.org/10.3390/ma12172751>
14. Ohta T (2016) in: Misra NN, Schluter O, Cullen PJ (eds) *Cold plasma in food and agriculture: fundamentals and applications*, Acad Press
15. Stoleru V, Burlica R, Mihalache G, Dirlau D, Padureanu S, Teliban G, Astanei A, Cojocar A, Beniuga O, Patras A (2020) *Sci Rep* 10:20920
16. Tian T, Ma R, Zhang Q, Feng H, Liang Y, Zhang J, Fang J (2015) *Plasma Process Polym* 12:439–449
17. Zhou R, Zhou R, Zhang X, Li J, Wang X, Chen Q, Yang S, Chen Z, Bazaka K, Ostrikov K (2016) *Sci Rep* 6:39552
18. Levchenko I, Bazaka K, Baranov O, Sankaran RM, Nomine A, Belmonte T, Xu S (2018) *Appl Phys Rev* 5:021103
19. Bruggeman PJ et al (2016), *Plasma Sources Sci Technol* 25: 053002
20. Sivachandiran L, Khacef A (2017) *RCS Adv* 7:1822–1832
21. Naumova IK, Maksimov AI, Khlyustova AV (2011) *Surf Eng Appl Electrochem* 47:263–265
22. Park DP, Davis K, Gilani S, Alonzo CA, Dobrynin D, Friedman G, Fridman A, Rabinovich A, Fridman G (2013) *Curr Appl Phys* 13:S19–S29
23. Zang Z, Rousseau A, Dufour T (2017) *RSC Adv* 7:31244–31251
24. Oehmigen K, Hahnel M, Brandenburg R, Wilke C, Weltmann KD, von Woedtke T (2010) *Plasma Process Polym* 7:250–257
25. Sacristán D, Recatal L, Viscara Rossel RA (2015) *Sci Horticult* 193:346–352
26. Liu R, Zhang H, Lal R (2016) *Water Air Soil Pollut* 227:42
27. Pelegrino MT, Kohatsu MY, Seabra AB, Monteiro LR, Gomes DG, Oliveira HC, Rolim WR, de Jesus TA, Batista BL, Lange CN (2020) *Environ Monit Assess* 192:232
28. Peralta JR, Gardea-Torresdey JL, Tiemann KJ, Gomez E, Arteaga S, Rascon E, Parsons JG (2001) *Bull Environ Contam Toxicol* 66:727–734
29. Lichtenthaler HK, Wellburn AR (1983) *Biochem Soc Trans* 11:591–592
30. Lukes P, Locke BR, Brisset JL (2012). In: Parvelescu VI, Magureanu M, Lukes P (Eds) *Plasma chemistry and catalysis in gases and liquids*. Wiley-VCH Verlag GmbH
31. Burlica R, Kirkpatrick MJ, Locke BR (2006) *J Electrostat* 64:35–43
32. Ma R, Wang G, Tian Y, Wang K, Zhang J, Fang J (2015) *J Hazard Mat* 300:643–651
33. Bruggeman PJ, Leys C (2009) *J Phys D: Appl Phys* 42: 053001
34. Dunand C, Crèvecoeur M, Penel C (2007) *New Phytol* 174:332–341
35. Lukes P (2002) PhD Dissertation, Institute of Plasma Physics Prague (Czech Republic)
36. Lukes P, Dolezalova E, Sisrova I, Clupek M (2014) *Plasma sources Sci Technol* 23: 015019
37. Bradu C, Kutasi K, Magureanu M, Puač N, Živković S (2020) *J Phys DAppl Phys*. 53: 223001
38. Thirumadasa R, Kothakotab A, Annapurec U, Siliverud K, Blundelle R, Gattf R, Valdramidis VP (2018) *Trends in Food Sci Technol* 77:21–31
39. Andrews M, Raven JA, Lea PJ (2013) *Ann Appl Biol* 16:165–317
40. Taiz L, Zeiger E (2006) *Plant physiology*, 4th edn. Sinauer Associates Inc., Sunderland Massachusetts
41. Kučerová K, Henselová M, Slovákova L, Hensel K (2019) *Plasma Process Polym* 16:1–14
42. Puač N, Škoro N, Spasić K, Živković S, Milutinović M, Malović G, Petrović ZL (2018) *Plasma Process Polym* 15:1700082
43. Holmes SC, Wells DE, Pickens JM, Kemble JM (2019). *Horticultrae*. <https://doi.org/10.3390/horticultrae5030050>
44. Krouk G, Crawford NM, Coruzzi GM, Tsay YF (2010) *Curr Opin Plant Biol* 13:265–272
45. Bewley JD, Black M (1994) In: *Seeds*. Boston: Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1002-8-1>
46. Krapp A, David LC, Chardin C, Girin T, Marmagne A, Leprince AS, Chaillou, Ferrario-Méry S, Meyer C, Daniel-Vedele F (2014) *J Exp Bot* 65:789–798
47. Padureanu S, Stoleru V, Patras A, Burlica R, Dirlau D, Astanei D, Beniuga O (2018) *Proc.10th Int Conf Exp Elec and Power Eng. Iasi (Romania)*

48. Hossain MA, Bhattacharjee S, Armin SM, Qian P, Xin W, Li HY, Burritt DJ, Fujita M, Tran LS (2015). *Front Plant Sci.* <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00420>
49. Barba-Espin G, Diaz-Vivancos P, Clemente-Moreno MJ, Albacete A, Faize L, Faize M (2010) *Plant Cell Environ* 33:981–994
50. Ismael SZ, Khandaker MM, Mat N, Boyce AN (2015) *J Agro* 14:331–336
51. Bafoil M, Jemmat A, Martinez Y, Merbahi N, Eichwald O, Dunand C (2018) *PLoS One* 13:e0195512
52. Sayyah M, Hadidi N, Kamalinejad M (2004) *J Ethnopharmacol* 92:325–329
53. Lariguet P, Ranocha P, De Meyer M, Barbier O, Penel C, Dunand C (2013) *Planta* 238:381–395
54. Weitbrecht K, Müller K, Leubner-Metzger G (2011) *J Exp Botany* 62:3289–3309
55. Ogawa K, Iwabuchi M (2001) *Plant and cell physiology* 42:286–291
56. Katzman LS, Taylor AG, Langhans RW (2001) *Hortscience* 36:979–981.
57. Kim MS, Blake M, Baek JH, Kohlhagen G, Pommier Y, Carrier F (2003) *Can Res* 63:7291–7300
58. Adhikari B, Adhikari M, Ghimire B, Park G, Choi EH (2019) *Sci Rep* 9:16080
59. Ghosh PK, Ajay N, Bandyopadhyay KK, Manna MC, Mandal KG, Misra AK, Hati KM (2004) *Biore-sour Technol* 95:85–93
60. Suzuki JY, Bollivar DW, Bauer CE (1997) *Annual Rev Genet* 31:61–89
61. Fraile-Robayo RD, Álvarez-Herrera JG, Reyes MAJ, Álvarez-Herrera OF, Fraile-Robayo AL (2017) *Agronomía Colombiana.* 35:216–222
62. Cooke JE, Martin TA, Davis JM (2005) *New Phytol* 167:41–52
63. Teixeira Filho MCM, Buzetti S, Andeotti M, Arf O, de Sá ME (2011) *Ciência Rural* 41:1375–1382

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

ẢNH HƯỞNG CỦA NỒNG ĐỘ H₂O₂ ĐẾN QUÁ TRÌNH NẢY MẦM HẠT XÀ LÁCH XOẪN (*Lactuca savita* var *capitata* L.)

Effect of H₂O₂ Concentrations on The Germination and Seedling Growth at Early Stage of Lettuce (*Lactuca savita* var *capitata* L.)

Thân Quốc An Hạ^{1,2*}, Nguyễn Võ Kỳ Duyên¹, Đinh Quốc Hòa³, Nguyễn Thành Trung¹, Phạm Hoài Thương¹, Phạm Hữu Thiện^{1,2}

Ngày nhận bài: 28.6.2021

Ngày chấp nhận: 22.7.2021

Abstract

The aim of this study was to optimize the use of H₂O₂ to stimulate seed germination and early development, in particular, lettuce seeds (*Lactuca savita* var *capitata* L.). H₂O₂ at different concentrations from 10 - 50 ppm were created to act on the seeds. In addition, the factors of seed soaking time with H₂O₂ and the frequency of additional irrigation with H₂O₂ in the early stage of development of the seedlings were also performed. The criteria to evaluate the effectiveness of H₂O₂ include the weight of thousand seeds, germination rate, growth parameters (root length, stem height, ratio of dry weight / fresh weight), chlorophyll concentration. The results showed that soaking seeds in H₂O₂ at a concentration of 10 ppm for 2 hours and no additional watering of H₂O₂ for the following days gave the best results in stimulating germination and seedling growth.

Keywords: H₂O₂, germination, seedling.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xà lách xoăn (*Lactuca savita* var *capitata* L.) là loại rau ăn lá, có khả năng cung cấp hầu hết các loại vitamin và đặc biệt giàu vitamin A, C, K, niacin, folate và nhiều khoáng chất như canxi, sắt, photpho, natri và kali (Bộ Nông nghiệp Hoa Kỳ, 2016). Với những ưu điểm như độ nhạy của hạt cao, tốc độ nảy mầm nhanh, sinh trưởng tuyến tính, thời gian sinh trưởng ngắn, không nhạy cảm với một loạt các chênh lệch pH (Amanda và cộng sự, 2010), xà lách xoăn thường được chọn làm đối tượng nghiên cứu về sự nảy mầm và phát triển của cây trồng. Nảy mầm hạt là một quá trình gồm các giai đoạn khác nhau diễn ra bên trong hạt, bắt đầu bằng sự hấp thu nước và kết thúc khi rễ mầm nhú ra khỏi vỏ hạt. Các yếu tố then chốt để quyết định sự nảy mầm hạt bao gồm lớp vỏ hạt nứt ra cho nước và oxy xâm nhập vào hạt, có sự hấp thu nước của hạt, các chất thúc đẩy tăng trưởng được kích thích và các chất ức chế bị ức chế. Với sự tiến

bộ của khoa học kỹ thuật ngày nay, thì ngoài các phương pháp truyền thống, đã có rất nhiều phương pháp hiện đại hơn để đảm bảo các yếu tố trên được diễn ra nhằm nâng cao tỷ lệ và rút ngắn thời gian nảy mầm hạt như dùng từ trường (Ananta và cộng sự, 2010), xử lý bằng sóng siêu âm (Yaldagard và cộng sự, 2007), ozone, tia UV, plasma lạnh (Tkalec và cộng sự., 2009; Khacef và cộng sự, 2018),... Ở mỗi phương pháp đều có chứa các ưu và nhược điểm riêng, trong đó phương pháp sử dụng H₂O₂ để kích thích nảy mầm đang rất được quan tâm bởi các nhà nghiên cứu trên thế giới (Zeinalabedini và cs, 2009; Çavusoglu và Kabar, 2010).

H₂O₂ là một chất oxy hóa mạnh và được biết đến đầu tiên với vai trò là kháng khuẩn. Đã có nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng H₂O₂ 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 2 thập kỷ gần đây, tác dụng kích thích nảy mầm của H₂O₂ đã được các nhóm nghiên cứu khác nhau trên thế giới chứng minh (Zeinalabedini và cộng sự, 2009; Çavusoglu và Kabar, 2010). H₂O₂ dần dần được biết đến như một phân tử tín hiệu kích thích sự nảy mầm của hạt thông qua quá trình đồng hóa và / hoặc dị hóa với

1. Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng - VAST
2. Học viện Khoa học và công nghệ - VAST
3. Công ty Cổ phần Hóa chất Nông Việt

phytohormone như GA, ABA và ethylene trong thực vật (Yingqiao Liu và cộng sự, 2010). Barba-Espin và cộng sự (2010) đã chứng minh rằng H₂O₂ ngoại sinh làm tăng sự nảy mầm của hạt đậu, cũng như sự phát triển của cây con do H₂O₂ gây ra và các protein cảm ứng (14-3-3, TCTP, proteasome, ...) có liên quan đến tín hiệu và tăng trưởng thực vật, đông máu và phân chia tế bào, và kiểm soát chu kỳ tế bào. Arafat và cộng sự (2019) đã chứng minh rằng việc sử dụng H₂O₂ 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. Kết quả nghiên cứu của nhóm Ken'ichi Ogawa (2010) cho thấy (các) chất ức chế nảy mầm H₂O₂ oxy hóa có trong vỏ hạt giúp thúc đẩy nảy mầm nhanh hơn.

Các nghiên cứu trước đây đã chứng minh H₂O₂ ở nồng độ thích hợp có vai trò kích thích sự nảy mầm của hạt và sự phát triển của cây con và cũng đã có một số nhóm nghiên cứu đưa ra được một số cơ chế tác động của H₂O₂ đến quá trình này. Tuy nhiên, mối tương quan giữa nồng độ, thời gian ngâm hạt và liều lượng tưới bổ sung H₂O₂ vẫn chưa được thực hiện. Chính vì thế mà trong nghiên cứu này, chúng tôi đã thực hiện một loạt các khảo sát về sự ảnh hưởng của H₂O₂ lên quá trình nảy mầm và tăng trưởng trong giai đoạn sớm của xà lách xoăn để có thể tối ưu hóa điều kiện sử dụng H₂O₂ trong nông nghiệp.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu

Hạt giống xà lách xoăn (*Lactuca sativa* var *capitata* L.) được thu hái ở vườn trồng cải thuộc quận Cái Răng, tỉnh Cần Thơ, Việt Nam. Bảo quản ở nhiệt độ thường trong tối.

H₂O₂ được sử dụng trong các thí nghiệm là H₂O₂ 30% có độ tinh khiết phân tích (Merck).

Nghiên cứu được thực hiện trong 03 tháng tại Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng

2.2 Phương pháp thí nghiệm

Ảnh hưởng của nồng độ H₂O₂: Ngâm hạt 2 giờ trong nước cất (Đối chứng) và dung dịch H₂O₂ ở các nồng độ khác nhau (10, 20, 30, 40, 50 ppm). Sau đó gieo hạt trên đĩa Petri có chứa giấy lọc đã được làm ẩm với 2 mL dung dịch H₂O₂ nồng độ tương ứng (20 hạt / đĩa). Đặt đĩa

trong phòng nuôi cấy ở nhiệt độ 30 ± 2°C, điều kiện chiếu sáng 16 giờ sáng/ 8 giờ tối/ ngày trong 7 ngày, tưới 1 ml nước cất mỗi ngày cho mỗi đĩa petri chứa hạt. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Ảnh hưởng của thời gian tiếp xúc của hạt và H₂O₂: Ngâm hạt với dung dịch H₂O₂ nồng độ 10 ppm ở các khoảng thời gian khác nhau (0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 và 3 giờ). Sau đó gieo hạt trên đĩa Petri có chứa giấy lọc đã được làm ẩm bằng 2 ml dung dịch H₂O₂ nồng độ 10 ppm (20 hạt / đĩa). Đặt đĩa vào phòng nuôi cấy ở nhiệt độ 30 ± 2°C, điều kiện chiếu sáng 16 giờ sáng/ 8 giờ tối/ ngày trong 7 ngày, mỗi ngày tưới 1 ml nước cất. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Ảnh hưởng của tần suất bổ sung H₂O₂: Ngâm hạt với H₂O₂ 10 ppm trong 2 giờ. Sau đó gieo hạt trên đĩa Petri có chứa giấy lọc được làm ẩm bằng 2 ml dung dịch H₂O₂ nồng độ 10 ppm (20 hạt / đĩa). Đặt các đĩa vào phòng nuôi cấy ở nhiệt độ 30 ± 2°C, điều kiện chiếu sáng 16 giờ sáng/ 8 giờ tối/ ngày trong 7 ngày. Liều lượng tưới bổ sung được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Các nghiệm thức được tiến hành để khảo sát ảnh hưởng của tần suất tưới bổ sung H₂O₂ đến các chỉ số nảy mầm và sinh trưởng của xà lách xoăn trong 07 ngày đầu

Nghiệm thức	Số ngày tưới H ₂ O ₂ 10 ppm	Số ngày tưới nước cất
1	1	6
2	2	5
3	3	4
4	4	3
5	5	2
6	6	1

2.3 Phương pháp xác định sự tăng trưởng của hạt

Khối lượng nghìn hạt: Cân 100 hạt xà lách xoăn khô (chọn các hạt có hình dáng, kích thước tương tự nhau để giảm sai số) bằng cân phân tích. Ngâm hạt vào các mẫu nước (đã được chuẩn bị như ở mục 2.2) trong các đĩa petri (1 mẫu nước/đĩa). 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 đi cân trọng lượng

bằng cân phân tích. Từ trọng lượng 100 hạt suy ra trọng lượng nghìn hạt. Mỗi mẫu lặp lại 3 lần, mỗi lần 100 hạt (TCVN 1700:1976).

Tỷ lệ nảy mầm sau 24 giờ tính theo công thức:

$$R_g = \frac{\text{Số hạt nảy mầm}}{\text{Tổng số hạt gieo}} * 100$$

Chiều cao là chiều cao cây được đo từ gốc đến đỉnh lá cao nhất.

Chiều dài rễ được đo từ gốc đến đỉnh rễ của rễ dài nhất.

Nồng độ diệp lục tố trong lá được đánh giá thông qua hàm lượng chlorophyll a và b phương pháp phân tích quang phổ hấp phụ của dịch lá. 1 gam lá xà lách xoăn tươi cắt nhỏ, ly tâm 6000 vòng/ phút trong 5 phút sau đó thu dịch nổi để đo lượng chlorophyll trong mẫu trước khi phân tích quang phổ hấp phụ bằng máy đo quang phổ UV - Vis. Độ hấp phụ (OD) được đo ở bước sóng 662 và 645 nm. Hàm lượng chlorophyll a và b được tính theo công thức (Lichtentaler, Wellburn, 1985):

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

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

Tỷ lệ khối lượng khô/ khối lượng tươi: Sau 7 ngày, cây con được để lên giấy lọc để thấm hút

nước còn dư ngoài cây sau đó cân để ghi nhận trọng lượng tươi. Trọng lượng khô được xác định sau khi sấy ở nhiệt độ 105°C sau 2 giờ hạ xuống 80°C, cân lại cho đến khi trọng lượng không đổi.

Các số liệu thu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel® 2013.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1 Ảnh hưởng của nồng độ H₂O₂

Ảnh hưởng của nồng độ H₂O₂ đến sự nảy mầm và sinh trưởng của xà lách trong 7 ngày đầu được trình bày trong bảng 2. Số liệu cho thấy khối lượng nghìn tăng đều khi nồng độ H₂O₂ tác động lên hạt. Ngoài ra, với nồng độ H₂O₂ sử dụng là 10 ppm, các thông số tăng trưởng của hạt như tỷ lệ nảy mầm (67 ± 2,74) (%), chiều cao thân (3,34 ± 0,10) (mm), chiều dài rễ (11,50 ± 0,51) (mm), tỉ lệ m_{khô} / m_{tươi} (5,25 ± 0,08), nồng độ diệp lục tố (1,37 ± 0,02) (µg / L) của xà lách xoăn đều cao hơn các nghiệm thức khác. Riêng về chỉ số chiều dài rễ, mẫu đối chứng (sử dụng nước cất) có giá trị cao nhất (15,25 ± 0,83) (mm) so với tác động của H₂O₂.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ H₂O₂ đến các chỉ số nảy mầm và sinh trưởng của rau xà lách trong 7 ngày đầu tại phòng thực vật thuộc Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng

Nồng độ H ₂ O ₂ (ppm)	Trọng lượng nghìn hạt (g)	Tỷ lệ nảy mầm (%)	Chiều cao thân (mm)	Chiều dài rễ (mm)	Tỷ lệ m _{khô} /m _{tươi} (%)	Nồng độ diệp lục tố (µg/L)
0 (Đối chứng)	1,325 ± 0,04	49 ± 2,24	3,23 ± 0,14	15,25 ± 0,53	5,19 ± 0,44	1,26 ± 0,07
10	1,439 ± 0,01	67 ± 2,74	3,34 ± 0,10	11,50 ± 0,51	5,25 ± 0,08	1,37 ± 0,02
20	1,495 ± 0,01	58 ± 2,74	3,25 ± 0,12	6,70 ± 0,18	4,15 ± 0,27	1,13 ± 0,06
30	1,538 ± 0,03	55 ± 3,54	2,90 ± 0,11	7,20 ± 0,56	4,02 ± 0,23	0,77 ± 0,18
40	1,615 ± 0,02	54 ± 2,24	2,50 ± 0,14	6,13 ± 0,37	3,84 ± 0,21	0,65 ± 0,07
50	1,567 ± 0,04	52 ± 4,47	2,13 ± 0,10	4,12 ± 0,23	3,21 ± 0,27	0,51 ± 0,03

Những dữ liệu này chứng minh rằng nồng độ H₂O₂ khác nhau sẽ có những ảnh hưởng khác nhau đến thực vật. Điều này phù hợp với các nghiên cứu trước đây: Việc sử dụng H₂O₂ ở nồng độ thấp có tác động tích cực đến sự phát triển của cây con (Çavusoglu & Kabar, 2010; Deng và cộng sự, 2012). H₂O₂ có khả năng kích thích hạt nảy mầm nhờ các tác dụng sau đối với hạt: Hỗ trợ làm nứt vỏ hạt giúp nước thấm vào hạt nhanh hơn; Điều chỉnh sự biểu hiện của các

enzym mã hóa các gen thủy phân của tinh hoàn và nội nhũ, cho phép hạt giống thoát khỏi sự kiểm soát của vỏ hạt và nảy mầm nhanh hơn (Krapp và cộng sự, 2014); Chất trung gian của H₂O₂ là *OH, có thể phân cắt các polysaccharid của thành tế bào để nối lỏng thành tế bào (Giti Verma và cộng sự, 2015). Mặt khác, vỏ hạt thường chứa các hợp chất gọi là phenol và ancaloit ức chế sự nảy mầm của hạt, đây là những chất oxy hóa mạnh có thể oxy hóa những

chất này để hạt mọc nhanh hơn (Zhenguo và cộng sự, 2016). Do đó, mức độ hút nước (thể hiện qua khối lượng hàng nghìn hạt) của hạt được kích thích bởi H₂O₂ cao hơn, dẫn đến tỷ lệ nảy mầm cao hơn so với mẫu đối chứng.

Sau khi nảy mầm, H₂O₂ tiếp tục hoạt động trên cây con như một phân tử tín hiệu sinh học, điều phối một loạt các quá trình diễn ra trong cây con như góp phần huy động các chất dự trữ trong hạt thông qua quá trình oxy hóa các proteindự trữ mà chất dinh dưỡng có thể nhận biết được. Cơ quan lưu trữ như một tín hiệu để huy động nguồn dự trữ đến trực tiếp đang phát triển nhanh chóng (Wilson và cộng sự, 2008); Thay đổi trạng thái oxy hóa khử của phytohormon làm thay đổi tương tác của chúng với các protein báo hiệu nảy mầm, kích hoạt tín hiệu sinh tổng hợp GA và / hoặc ức chế tín hiệu ABA (Pavlovich và cộng sự, 2013) giúp cây con phát triển tốt hơn đối chứng. Những kết quả này phù hợp với nghiên cứu của G. Barba - espin và cộng sự (2010) và nhóm nghiên cứu của Łukasz Wojtyła và cộng sự (2016).

Mặt khác, H₂O₂ là một chất oxy hóa mạnh, nó

có khả năng tương tác với hầu hết các phân tử sinh học (axit amin, protein, lipid) nên khi nồng độ H₂O₂ trong tế bào quá cao có thể dẫn đến: 1) stress oxy hóa, gây tổn thương tế bào; 2) quá trình peroxy hóa lipid ảnh hưởng đến các axit béo không bão hòa trên màng tế bào hoặc kho chứa lipid. Vì vậy, hạt được xử lý với H₂O₂ 10 ppm giúp hạt có các chỉ số nảy mầm và tăng trưởng tốt nhất, khi tăng nồng độ H₂O₂ thì các chỉ tiêu này đều giảm.

3.2 Ảnh hưởng của thời gian ngâm hạt với H₂O₂

Bảng 3 cho thấy ảnh hưởng của thời gian ngâm hạt với 10 ppm H₂O₂ đến các chỉ số nảy mầm và sinh trưởng của xà lách xoăn trong 7 ngày đầu. Khối lượng nghìn hạt tăng đều vào thời điểm từ 0,5 đến 2 giờ, sau 2 giờ khối lượng nghìn hạt tiếp tục tăng nhưng rất chậm. Các thông số khác như tỷ lệ nảy mầm, chiều cao thân, chiều dài rễ, tỷ lệ khối lượng khô / khối lượng tươi của cây con và nồng độ diệp lục trong lá đều có xu hướng giống nhau. Các giá trị này tăng dần đến thời gian ngâm 2 giờ đạt cực đại rồi giảm dần.

Bảng 2. Ảnh hưởng của thời gian ngâm với 10 ppm H₂O₂ đến các chỉ số nảy mầm và sinh trưởng của xà lách xoăn trong 7 ngày đầu tại phòng thực vật thuộc Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng

Thời gian ngâm H ₂ O ₂	Trọng lượng nghìn hạt (g)	Tỷ lệ nảy mầm (%)	Chiều cao thân (mm)	Chiều dài rễ (mm)	Tỷ lệ m _{khô} /m _{tươi} (%)	Nồng độ diệp lục tố (µg/L)
0,5 giờ	1,326 ± 0,04	49 ± 2,75	3,22 ± 0,14	15,29 ± 0,53	5,15 ± 0,42	1,27 ± 0,05
1,0 giờ	1,379 ± 0,01	65 ± 2,74	3,33 ± 0,88	13,27 ± 0,88	5,20 ± 0,12	1,30 ± 0,22
1,5 giờ	1,425 ± 0,04	66 ± 2,51	3,47 ± 0,82	12,93 ± 0,96	5,23 ± 0,02	1,32 ± 0,36
2,0 giờ	1,439 ± 0,03	68 ± 2,05	3,35 ± 0,14	11,55 ± 0,55	5,23 ± 0,09	1,37 ± 0,02
2,5 giờ	1,549 ± 0,12	67 ± 4,18	3,34 ± 0,91	11,47 ± 0,74	5,17 ± 0,11	1,23 ± 0,28
3,0 giờ	1,652 ± 0,08	62 ± 2,74	3,27 ± 1,03	10,80 ± 0,94	5,14 ± 0,15	1,22 ± 0,04

Sự hấp thụ nước của hạt được gọi là “imbibition”, quá trình này cho phép lớp vỏ hạt nở ra tạo các vết nứt và cuối cùng là vỡ ra cho nước xâm nhập vào bên trong hạt. Khi nước xâm nhập vào hạt, chúng có thể có nhiều vai trò khác nhau như: loại bỏ các chất ức chế nảy mầm khỏi hạt (Baillly và cộng sự, 2002) hoặc làm dung môi cho các phản ứng sinh hóa trong

hạt nảy mầm và các điều kiện cần thiết cho quá trình hô hấp. Thêm vào đó, khi hạt hút đủ nước, các phản ứng thủy phân protein, lipid... ở dạng dự trữ thành monome trong hạt sẽ diễn ra với tốc độ nhanh hơn giúp việc sử dụng các chất dinh dưỡng phục vụ cho nảy mầm tốt hơn. Tất cả những yếu tố này sẽ giúp hạt nảy mầm nhanh hơn. Tuy nhiên, khi hạt được ngâm quá

lâu trong nước sẽ dẫn đến hiện tượng bão hòa trong nội bào hạt gây ảnh hưởng xấu đến quá trình trao đổi chất của hạt.

Thời gian ngâm hạt trước khi gieo ẩm có các tác động khác nhau đối với sự phát triển của hạt trong 7 ngày đầu. Trong kết quả nghiên cứu này thì khi ngâm hạt với 10 ppm H₂O₂ trong 2 giờ mang lại hiệu quả tích cực nhất cho sự phát triển của hạt.

3.3 Ảnh hưởng của tần suất bổ sung H₂O₂

Bảng 4 mô tả kết quả của các thông số sinh trưởng trong giai đoạn đầu của rau diếp sau khi được tưới với 10 ppm H₂O₂ ở các ngày khác nhau. Chiều cao thân và chiều dài rễ tỷ lệ nghịch

với số ngày tưới H₂O₂ 10 ppm. Giá trị cao nhất của chiều cao thân là 9,93 ± 0,80 (mm) và chiều dài rễ là 15,60 ± 0,83 (mm) khi chỉ tưới thêm H₂O₂ vào ngày đầu tiên, khi tăng số ngày tưới H₂O₂ thì các giá trị của chỉ tiêu đó bắt đầu bằng giảm dần. Sự thay đổi giá trị của tỷ lệ trọng lượng khô / tươi của cây con với nồng độ điệp lục trong lá tương tự như chiều cao thân và chiều dài rễ, đạt ngưỡng khi chỉ tưới nước bổ sung H₂O₂ 1 ngày sau đó giảm dần đều. Điều này cho thấy khi bổ sung 10 ppm H₂O₂ cho cây con trong hơn 1 ngày, hiện tượng ức chế xuất hiện trên cây con do các chỉ tiêu sinh trưởng đều có xu hướng giảm.

Bảng 3. Ảnh hưởng của tần suất tưới bổ sung 10 ppm H₂O₂ đến các chỉ số sinh trưởng của xà lách trong 7 ngày đầu tại phòng thực vật thuộc Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng

Số lượng ngày tưới H ₂ O ₂	Chiều cao thân (mm)	Chiều dài rễ (mm)	Tỉ lệ m _{khô} /m _{tươi} (%)	Nồng độ điệp lục tố (µg/L)
1 ngày	3,45 ± 0,18	11,54 ± 0,53	5,24 ± 0,08	1,39 ± 0,03
2 ngày	3,40 ± 0,44	11,40 ± 0,99	5,27 ± 0,13	1,28 ± 0,05
3 ngày	3,37 ± 0,53	11,33 ± 0,74	5,15 ± 0,23	1,25 ± 0,08
4 ngày	3,23 ± 0,45	11,10 ± 0,91	5,07 ± 0,25	1,22 ± 0,04
5 ngày	3,27 ± 0,62	10,53 ± 0,99	4,95 ± 0,18	1,18 ± 0,08
6 ngày	3,23 ± 0,80	10,27 ± 0,77	4,99 ± 0,18	1,16 ± 0,07

Sau khi nảy mầm, H₂O₂ được tưới bổ sung sẽ được vận chuyển lên lá, nơi nó trở thành chất truyền tín hiệu kích thích con đường sinh hóa kháng stress của cây. Các enzym phân hủy như catalase được kích hoạt để loại bỏ H₂O₂ còn sót lại trong lá. Do đó, càng nhiều H₂O₂ thì nồng độ tích tụ trong lá càng nhiều. Tuy nhiên, peroxide chỉ có tác dụng như một chất kích thích con đường sinh hóa trong thực vật, nó không được vận chuyển đến quả như các hợp chất thứ cấp khác (Çavusoglu & Kabar, 2010; Uchida và cộng sự, 2004). Vì vậy, việc chỉ tưới bổ sung H₂O₂ 10 ppm trong ngày đầu tiên là đủ cho nhu cầu của cây con và đồng thời không gây hiện tượng stress sinh học, làm giảm năng suất cây con.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1 Kết luận

Trong bài báo này, các yếu tố ảnh hưởng của

H₂O₂ đến sự nảy mầm và phát triển của hạt xà lách xoắn trong giai đoạn đầu đã được nghiên cứu. Kết quả cho thấy điều kiện tối ưu là ngâm hạt giống trong dung dịch H₂O₂ 10 ppm trong 2 giờ và tưới bổ sung H₂O₂ 10 ppm ở ngày đầu tiên, các ngày sau đó sử dụng nước tưới bình thường. Việc sử dụng H₂O₂ - một tác nhân oxy hóa chi phí thấp, dễ kiểm tra có thể xem như một công nghệ kích thích nảy mầm mới, có ý nghĩa thiết thực trong việc cải thiện năng suất cây trồng.

4.2 Đề nghị

Tiếp tục nghiên cứu đánh giá hiệu quả kích thích tăng trưởng của H₂O₂ kết hợp với các nguyên tố Ni-tơ, Phốt-pho, Kali trong quy trình sản xuất xà lách và đồng thời thử nghiệm trên các loại rau lấy lá khác.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được hỗ trợ bởi Chương trình hợp tác giữa Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng và Công ty Cổ phần hóa chất Nông Việt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. A. Krapp, L.C. David, C. Chardin, T. Girin, A. Marmagne, A.S. Leprince, S. Chaillou, S. Ferrario-Méry, C. Meyer, F. Daniel-Vedele, 2014. *Nitrate transport and signalling in Arabidopsis*. J. Exp. Bot., 65, 789-798.
2. Amanda, O.A., Maria, A.P., DA Silva, Alison, H., D. Oliveira, Marcos, A.F., Dos Santos, Lilian, C.S., Vandemet, Maria, E.M.G., Helen, K.R.C.C., Hemerson, S.L., Ana, C.A.M.M., Natália, C., Da Costa, 2017. *Allelopathic Effects of Psychotria viridis Ruiz & Pavon on the Germination and Initial Growth of Lactuca sativa L.* Journal of Agricultural Science 9 (1)
3. Ananta V., Shantha N., 2010. *Effect on germination and early growth characteristics in sunflower (Helianthus annuus) seeds exposed to static magnetic field.* Journal of Plant Physiology. Volume 167, Issue 2.
4. Bailly, Christophe, Bogatek-Leszczynska, Renata, Côme, Daniel, Corbineau, Françoise, 2002. *Changes in activities of antioxidant enzymes and lipoxygenase during growth of sunflower seedlings from seeds of different vigour.* Seed Science Research 12, 47–55.
5. Barba, E.G., DÍAZ, V.P., Clemente, M.J., Albacete, A., Faize, L., Faize, M., 2010. *Interaction between hydrogen peroxide and plant hormones during germination and the early growth of pea seedlings,* Plant Cell Environment 33, 981-94.
6. Bhawana, A., Manish, A., Bhagirath, G., Gyungsoon, P. & HA, C., 2019, *Cold Atmospheric plasma Activated Water irrigation induces Defense Hormone and Gene expression in tomato seedling.* Scientific report.
7. Çavusoglu K., & Kabar K., 2010. *Effects of hydrogen peroxide on the germination and early seedling growth of barley under NaCl and high temperature stresses.* Eur. Asian J. Biosci 4, 70-79.
8. Giti Verma, Sujata Mishra, Neelam Sangwan, Samir Sharma, 2015. *Reactive oxygen species mediate axis-cotyledon signaling to induce reserve mobilization during germination and seedling establishment in Vigna radiata.* Journal of Plant Physiology, Volume 184, 79-88.
9. Ken'ichi Ogawa, Masaki Iwabuchi, 2010. *A Mechanism for Promoting the Germination of Zinnia elegans Seeds by Hydrogen Peroxide.* Plant and Cell Physiology, Volume 42, Issue 3, Pages 286–291.
10. L. Sivachandiran, A. Khacef. 2017. *Enhanced seed germination and plant growth by atmospheric pressure cold air plasma: combined effect of seed and water treatment.* RSC Advances Issue 4, vol. 7, p. 1822-1832.
11. Łukasz Wojtyła, Katarzyna Lechowska, Szymon Kubala, Małgorzata Garnczarska, 2016. *Different Modes of Hydrogen Peroxide Action During Seed Germination.* Front Plant Sci, volume 7, artical 66.
12. Pavlovich M. J., Chen Z., Sakiyama Y., Clark D.S., Graves D B, 2013. *Effect of Discharge Parameters and Surface Characteristics on Ambient-Gas Plasma Disinfection.* Plasma Process Polym 10, 69-76.
13. Wilson I. D., Neill S.J., Hancock J.T., 2008. *Nitric oxide synthesis and signalling in plants.* Plant Cell Env 31, 622-631.
14. Yaldagard M., Mortazavi S., Tabatabaie F., 2007. *The effectiveness of ultrasound treatment on the germination stimulation of barley seed and its alpha-amylase activity.* World Acad Sci Eng Technol, 34, 154–157.
15. Yinggao Liu, Nenghui Ye, Rui Liu, Moxian Chen, Jianhua Zhang, 2010. *H₂O₂ mediates the regulation of ABA catabolism and GA biosynthesis in Arabidopsis seed dormancy and germination,* Journal of Experimental Botany, Volume 61, Issue 11, Pages 2979–2990.
16. Zeinalabedini, M., Majourhat, K., Hernández, J.A., Dicienta, F. & Martínez, G.P., 2009. *Breaking seed dormancy in long-term stored seeds from Iranian wild almond species.* Seed Science and Technology 37, 267–275.
17. Zhenguo Ma, Frédéric Marsolais, Natalia V. Bykova, Abir U. Igamberdiev, 2016. *Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species Mediate Metabolic Changes in Barley Seed Embryo during Germination,* Front. Plant Sci, volume 7.

Phản biện: TS. Ngô Thị Hạnh

HỘI THẢO QUỐC GIA
BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM

Lần thứ 20
Kỷ niệm 20 năm thành lập
Hội Nghiên cứu Bệnh hại thực vật Việt Nam



Đại hội thành lập Hội có tư cách pháp nhân ngày 03/8/2019



Đại hội lần thứ 19 tại Học viện Nông nghiệp Việt Nam, năm 2020

(Ảnh: TS. Nguyễn Văn Thiệp)



2021

HỘI THẢO QUỐC GIA BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM LẦN THỨ 20



HỘI THẢO QUỐC GIA
BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM

Lần thứ 20
Kỷ niệm 20 năm thành lập
Hội Nghiên cứu Bệnh hại thực vật Việt Nam



Mùa lúa chín ở Nghĩa Lộ - Tây Bắc



**LIÊN HIỆP CÁC HỘI KHOA HỌC VÀ KỸ THUẬT VIỆT NAM
HỘI CÁC NGÀNH SINH HỌC VIỆT NAM
HỘI NGHIÊN CỨU BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM
(V.P.S)**

**HỘI THẢO QUỐC GIA
BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM**

Lần thứ 20

Kỷ niệm 20 năm thành lập Hội Nghiên cứu Bệnh hại thực vật Việt Nam

The 20th National Conference of Phytopathological Society of Vietnam
V.P.S. - 2021

ISBN: 978-604-60-3373-8

**NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP
HÀ NỘI - 2021**

HỘI THẢO QUỐC GIA BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM

Ban Biên tập

- | | |
|----------------------------|-------------------------------------|
| 1. GS.TS. Vũ Triệu Mân | Trưởng ban |
| 2. PGS.TS. Nguyễn Đắc Khoa | Ủy viên thường trực |
| 3. GS.TS. Bùi Chí Bửu | Ủy viên |
| 4. GS.TS. Bùi Cách Tuyến | Ủy viên |
| 5. GS.TS. Nguyễn Văn Tuất | Ủy viên |
| 6. PGS.TS. Phạm Văn Dư | Ủy viên |
| 7. PGS.TS. Hà Việt Cường | Ủy viên |
| 8. PGS.TS. Nguyễn Văn Việt | Ủy viên |
| 9. TS. Đặng Vũ Thị Thanh | Ủy viên |
| 10. ThS. Phạm Thanh Thủy | Ủy viên phụ trách công tác xuất bản |

(Tranh bìa: Tranh của GS.TS. Vũ Triệu Mân ký họa phong cảnh nơi đoàn du lịch của Hội dồng chân nghỉ ở Nghĩa Lộ, Yên Bái năm 2015)

KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG *Xanthomonas* spp. VÀ *Fusarium* spp. CỦA DUNG DỊCH TẠO BỞI PLASMA NGUỘI TRONG ĐIỀU KIỆN IN VITRO

Thân Quốc An Hạ^{1,2*}, Đinh Quốc Hòa³,
Nguyễn Võ Kỳ Duyên¹, Phạm Hoài Thương¹, Phạm Hữu Thiện¹

¹Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng,
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Học viện Khoa học và Công nghệ,
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Công ty cổ phần Hóa chất Nông Việt

* Tác giả liên hệ: anhathan@yahoo.com

TÓM TẮT

Các bệnh trên cây trồng thường do các vi sinh vật gây ra. Trong đó *Xanthomonas* spp. và *Fusarium* spp. là hai loại vi sinh vật gây hại cho cây trồng thường thấy. Chúng gây ảnh hưởng xấu đến năng suất cũng như chất lượng cây trồng. Trong nghiên cứu này, các hoạt chất của dung dịch tạo bởi plasma nguội đã được chế tạo bằng phương pháp phóng điện plasma rào cản điện môi và khảo sát khả năng kháng vi sinh vật trên đối tượng là *Xanthomonas* spp. và *Fusarium* spp. thông qua phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu và đo vòng kháng khuẩn/nấm. Kết quả chỉ ra rằng khả năng kháng khuẩn dễ hơn so với kháng nấm, cụ thể trên *Fusarium* spp. đến mẫu P20 thì vòng kháng nấm bắt đầu xuất hiện trong khi trên *Xanthomonas* spp. ở mẫu P15 đã có xuất hiện vòng kháng khuẩn. Sự khác biệt này là do cấu tạo tế bào sinh vật nhân sơ và nhân thực khác nhau nên cần thành phần, tỷ lệ và nồng độ các hoạt chất có trong dung dịch tạo bởi plasma nguội khác nhau.

Từ khóa: *Xanthomonas* spp., *Fusarium* spp., dung dịch tạo bởi plasma nguội.

ABSTRACT

Evaluation of invitro antimicrobial efficacy of the dielectric barrier discharge (DBD) cold plasma against *Xanthomonas* spp. and *Fusarium* spp.

Plant diseases are usually caused by microorganisms. To be specific, *Xanthomonas* spp. and *Fusarium* spp. are two types of microorganisms that are commonly found harmful to plants. They adversely affected the yield as well as the quality of the crop. In

this study, the bioactive substances of the solution made by cold plasma were prepared by the dielectric barrier plasma discharge method, and they were investigated the antimicrobial ability on Xanthomonas spp. and Fusarium spp. through the determination of the minimum inhibitory concentration and disk diffusion method. The results indicate that the solution made by cold plasma treatment showed higher antibacterial activity than antifungal activity. While the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was P20 on Fusarium spp., Xanthomonas spp. showed MIC at sample P15. This difference rooted in the structural difference between prokaryotic and eukaryotic cells; therefore, they require different compositions, ratios and concentrations of bioactive substances in the solution made by cold plasma treatment.

Keywords: *Xanthomonas spp., Fusarium spp., the solution made by cold plasma treatment.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, các giải pháp nông nghiệp sạch đang được sự quan tâm của toàn cầu. Việc nâng cao chất lượng và sản lượng của sản phẩm là một trong những yếu tố quan trọng. Trong đó, nguyên nhân gây thiệt hại chính cho năng suất cây trồng là do các vi sinh vật gây hại như *Xanthomonas* spp. và *Fusarium* spp. gây ra, đây là các tác nhân phổ biến trên các loại cây trồng ở các nước nhiệt đới (Osdaghi và cộng sự, 2016; Potnis và cộng sự, 2015) trong đó có Việt Nam.

Xanthomonas spp. là một chi của vi khuẩn *Proteobacteria*, đây là vi khuẩn gây ra các bệnh đốm và đốm vi khuẩn ở lá, thân và trái trên nhiều cây trồng như cà chua, xà lách xoăn, bệnh bạc lá, lem lép hạt ở lúa và các cây công nghiệp khác như cây tiêu, cây điều,... Trong khi đó, *Fusarium* spp. lại là một chi lớn của nấm sợi, thường gây các bệnh trên cây trồng như héo do tắc bó mạch, thối rễ, thân và bắp, thối cổ rễ cây con và thối củ (Horst, 2008). Do đó, việc tìm kiếm các hoạt chất mới hay phương pháp mới để hạn chế tác hại của

các loại vi sinh vật này đồng thời không gây hại cho môi trường, con người và vật nuôi là điều cần thiết.

Các phương pháp truyền thống thường được dùng để tiêu diệt *Xanthomonas* spp. và *Fusarium* spp. gây bệnh trên cây trồng là sử dụng các loại thuốc bảo vệ thực vật từ nano bạc (Mishra và cộng sự, 2020; Ballottin và cộng sự, 2017), nano đồng (Kalyan và Chander Mani, 2012; Carvalho, 2019) và các loại thuốc diệt nấm có nguồn gốc sinh học (Kaitlin DeJesus, 2019). Tuy nhiên, các hoạt chất này thường để lại tồn dư trong đất, nước, không khí cũng như gây các tác hại cho con người trong quá trình sử dụng. Trên thế giới, hiện đã và đang có rất nhiều nghiên cứu sử dụng kỹ thuật plasma để tạo ra các sản phẩm có tác dụng diệt khuẩn (Qisen Xiang và cộng sự, 2018; Lin và cộng sự, 2019), diệt nấm (Los và cộng sự, 2020) và cả tăng trưởng cây trồng (Stoleru và cộng sự, 2020; Naumova và cộng sự, 2011; Sivachandiran và Khacef, 2017) mà vẫn hạn chế được các nhược điểm của các phương pháp truyền thống. Chính vì vậy mà xử lý cây bị nhiễm bệnh do vi sinh vật bằng dung dịch tạo bởi

plasma nguội là một giải pháp thay thế bền vững và đầy hứa hẹn (Park và cộng sự, 2013).

Cho đến nay, tại Việt Nam chưa có nhiều công bố sử dụng dung dịch tạo bởi plasma nguội vào việc kháng bệnh do vi sinh vật gây ra trên cây trồng, đặc biệt với *Xanthomonas* spp. và *Fusarium* spp. Chính vì vậy trong nghiên cứu này dung dịch tạo bởi plasma nguội được điều chế và đánh giá khả năng kháng *Xanthomonas* spp. và *Fusarium* spp. trong quy mô invitro.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Điều chế dung dịch tạo bởi plasma nguội

Dung dịch tạo bởi plasma nguội được điều chế bằng phương pháp phóng điện

plasma qua lớp điện môi (Dielectric barrier discharge - DBD) theo các nghiên cứu trước đây của nhóm nghiên cứu về Plasma ứng dụng tại Viện Khoa học Vật liệu Ứng dụng (Pham, Nguyen, 2020; Nguyen, 2020; Pham, Bui, Khacef, 2018).

Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình điều chế dung dịch tạo bởi plasma nguội bao gồm: lưu lượng khí mang, lưu lượng nước cung cấp vào hệ thống, các thông số máy tạo tia plasma và thời gian lưu. Trong đó, lưu lượng không khí cung cấp vào hệ thống tạo plasma được ổn định là 2 L/giờ, thể tích nước sử dụng là 500 mL với lưu lượng bơm vào hệ thống bằng bơm định lượng là 200 mL/phút. Thời gian lưu mẫu được thay đổi tăng dần từ 5, 10, 15, 20, 25 đến 30 phút để tạo ra các loại dung dịch tạo bởi plasma nguội khác nhau. Các mẫu được điều chế được liệt kê trong bảng 1.

Bảng 1. Số mẫu dung dịch khảo sát

Thứ tự	Mẫu dung dịch khảo sát	Ký hiệu
1	Nước cất	C
2	Dung dịch tạo bởi plasma nguội trong 05 phút	P5
3	Dung dịch tạo bởi plasma nguội trong 10 phút	P10
4	Dung dịch tạo bởi plasma nguội trong 15 phút	P15
5	Dung dịch tạo bởi plasma nguội trong 20 phút	P20
6	Dung dịch tạo bởi plasma nguội trong 25 phút	P25
7	Dung dịch tạo bởi plasma nguội trong 30 phút	P30

2.2. Phân lập các chủng vi sinh vật

Chủng vi sinh vật sử dụng được phân lập từ các mẫu lá và rễ của cây tiêu đen (*Piper nigrum*) có dấu hiệu của các bệnh lý do *Xanthomonas* spp. và *Fusarium* spp. gây ra từ huyện Lộc Ninh, tỉnh Bình Phước, Việt Nam.

Chủng *Xanthomonas* spp.: Lá tiêu chứa vết bệnh phẩm được cắt thành từng miếng nhỏ (2 × 2 cm) và ngâm trong 10mL nước cất vô trùng. Trái hỗn dịch chứa khuẩn *Xanthomonas* spp. thu được lên môi trường thạch dextrose khoai tây (Potato Dextrose Agar-PDA). Ủ đĩa thạch

chứa dịch khuẩn trong tủ ấm 30°C trong 24 giờ. Các khuẩn lạc đơn lẻ thể hiện các đặc điểm của *Xanthomonas* spp. được chọn lọc và tinh sạch bằng cách cấy lại trên môi trường PDA. Các chủng vi khuẩn này được xác định bằng PCR và các đặc điểm sinh lý được miêu tả bởi Areas và cộng sự (2015).

Chủng *Fusarium* spp.: Rễ tiêu được rửa sạch dưới vòi nước. Cắt mô bệnh điển hình (1 × 1 cm) sau đó khử trùng bằng cồn 70° trong 20 giây rồi rửa sạch lại bằng nước cất vô trùng. Thấm khô miếng cắt bằng giấy thấm vô trùng, dùng dao đã khử trùng cắt vết bệnh thành các miếng nhỏ (5 × 5 mm). Đặt các mô vừa cắt bằng môi trường nghèo dinh dưỡng. Khi nấm đã phát triển với kích thước 1 - 2 cm, lấy phần đầu sợi nấm cấy chuyển sang môi trường PDA.

2.3. Phương pháp đánh giá khả năng kháng vi sinh vật của dung dịch tạo bởi plasma nguội

Trong nghiên cứu này, khả năng kháng khuẩn, kháng nấm của dung dịch tạo bởi plasma nguội được đánh giá thông qua 2 phương pháp là xác định nồng độ ức chế tối thiểu (Minimum inhibitory concentration-MIC) và phương pháp đo đường kính vòng kháng khuẩn.

➤ Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)

Dung dịch tạo bởi plasma nguội ở thời gian 5 - 30 phút được sử dụng để khảo sát.

Với khuẩn *Xanthomonas* spp.: Dùng pipet hút 0,9 mL dung dịch tạo bởi

plasma nguội và 0,1 ml dung dịch khuẩn *Xanthomonas* spp. vào eppendorf. Lắc đều eppendorf bằng máy vortex trong 1 phút để dung dịch tạo bởi plasma nguội tiếp xúc *Xanthomonas* spp. 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 dung dịch tạo bởi plasma nguội ở thời gian ngắn nhất có số khuẩn lạc xuất hiện là dưới 3.

Với nấm *Fusarium* spp.: Nồng độ ức chế tối thiểu được thực hiện bằng phương pháp pha loãng. MIC được xác định là dung dịch tạo bởi plasma nguội ở thời gian ngắn nhất không có vi nấm phát triển (Panchai và cộng sự, 2015).

➤ Phương pháp đo đường kính vòng kháng khuẩn

Khả năng kháng vi sinh vật của dung dịch tạo bởi plasma nguội được xác định theo phương pháp của De Angelis và cộng sự. Dung dịch tạo bởi plasma nguội ở thời gian 5 - 30 phút được sử dụng để khảo sát. 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 nguội ở các thời gian khác nhau vào từng giếng và để yên 15 phút cho dung dịch tạo bởi plasma nguội 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 nguội được xác định dựa vào đường kính vòng kháng khuẩn (ΔD) xuất hiện xung quanh lỗ thạch.

$$\Delta D = D - d$$

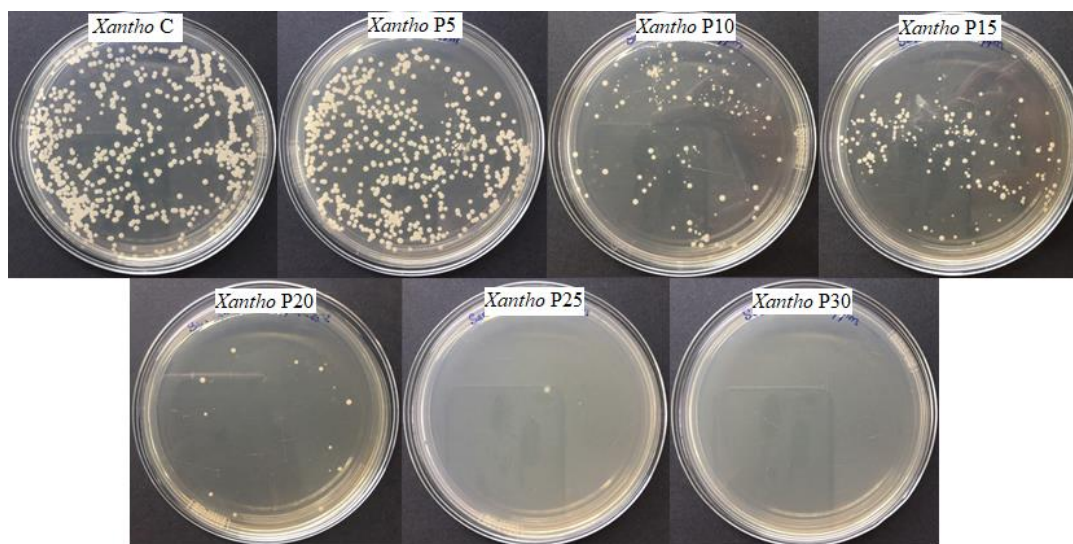
D: Đường kính vòng vô khuẩn (mm).

d: Đường kính lỗ thạch (mm).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hoạt tính kháng khuẩn của dung dịch tạo bởi plasma nguội

Hoạt tính kháng khuẩn của các mẫu dung dịch tạo bởi plasma nguội được đánh giá bằng phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu. Kết quả xác định nồng độ ức chế tối thiểu MIC của dung dịch tạo bởi plasma nguội đến vi khuẩn *Xanthomonas* spp. thể hiện ở hình 1.



Hình 1. Ảnh chụp các đĩa thạch có chứa mẫu đối chứng và các dung dịch tạo bởi plasma nguội ở thời gian khác nhau với *Xanthomonas* spp.

Hình 1 cho thấy điểm MIC của dung dịch tạo bởi plasma nguội là ở thời gian 25 phút vì ở điều kiện này dung dịch tạo bởi plasma nguội có khả năng ức chế hoàn toàn sự phát triển của vi khuẩn *Xanthomonas* spp. Dung dịch tạo bởi plasma nguội 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 nguội 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. Hiệu quả kháng tăng theo thời gian là do sự gia tăng nồng độ các hợp chất chứa oxy có hoạt tính (Reactive oxygen species-ROS) và các hợp chất chứa ni-tơ có hoạt tính (Reactive nitrogen species-RNS): NO₂, NO₃, H₂O₂, O₃, OH,... được hình thành trong quá trình dung dịch bị tác động bởi các tia plasma nguội.

Bảng 2. Kết quả bán kính vòng kháng khuẩn các loại dung dịch tạo bởi plasma nguội ở thời gian khác nhau

Mẫu	C	P5	P10	P15	P20	P25	P30
Bán kính vòng kháng khuẩn (mm)	0	0	0	2 ± 0,05	5 ± 0,05	7 ± 0,05	8 ± 0,05

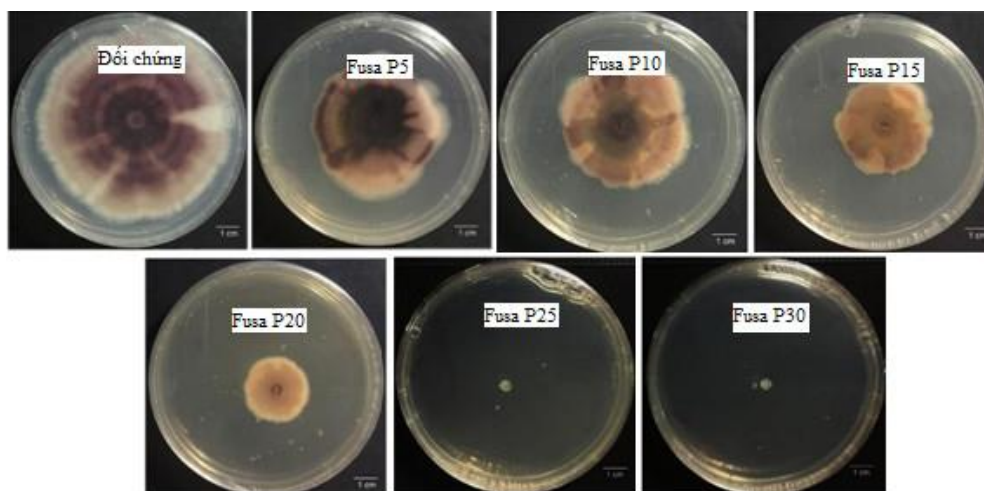
Trong trường hợp xác định hiệu quả kháng khuẩn của dung dịch tạo bởi plasma nguội dựa vào bán kính vòng kháng khuẩn ở bảng 2 thể hiện rõ dung dịch tạo bởi plasma trong khoảng thời gian 15 phút thì vòng kháng khuẩn bắt đầu xuất hiện với bán kính là 2 mm. Thời gian tác động của tia plasma càng dài thì đường kính vòng kháng khuẩn càng lớn. Điều này chỉ ra rằng dung dịch tạo bởi plasma nguội hoàn toàn có khả năng kháng *Xanthomonas* spp.

Có rất nhiều nhóm nghiên cứu đưa ra các cơ chế kháng khuẩn của dung dịch tạo bởi plasma nguội. Laurita và cộng sự (2015) cho rằng chính giá trị pH thấp và sự hình thành của H₂O₂ trong dung dịch tạo bởi plasma nguội đã tạo nên khả năng kháng khuẩn của nó. Trong khi đó, Traylor và cộng sự (2011) cho rằng dung dịch tạo bởi plasma nguội gây ra sự ức chế vi khuẩn là do các hoạt chất sinh ra từ sự tương tác của H₂O₂ và ion NO₂⁻. Một nghiên cứu khác của Oehmigen và cộng sự (2011) đã chỉ ra cơ chế kháng khuẩn chi tiết hơn là trong điều kiện axit, 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 nitơ thâm nhập vào bên trong tế bào vi khuẩn và phân hủy thành NO₂⁻ và [•]OH có tính oxy hóa cao và phá hủy tế bào vi sinh vật từ bên trong. 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 nguội là nhờ vào sự kết hợp của nhiều yếu tố như giá trị pH, oxy và nitơ (Chen và cộng sự, 2008; Zhang và cộng sự, 2008; Lukes và cộng sự, 2014). Từ các nghiên cứu trên cho thấy hiệu quả kháng khuẩn của dung dịch tạo bởi plasma nguội phụ thuộc vào nhiều yếu tố như: giá trị pH, các loại oxi có hoạt tính (Reactive oxygen species-ROS) và các loại nitơ có hoạt tính (Reactive nitrogen species-RNS). Tùy thuộc vào thành phần, tỷ lệ và nồng độ các chất và thời gian tiếp xúc của dung dịch tạo bởi plasma nguội với vi sinh vật.

3.2. Hoạt tính kháng nấm của dung dịch tạo bởi plasma nguội

Phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu MIC được sử dụng để đánh giá hoạt tính kháng nấm của các mẫu dung dịch tạo bởi plasma nguội. Kết quả xác định nồng độ ức chế tối thiểu MIC của dung dịch tạo bởi plasma nguội đến nấm *Fusarium* spp. thể hiện ở hình 2.



Hình 2. Ảnh chụp các đĩa thạch có chứa mẫu đối chứng và các dung dịch tạo bởi plasma nguội ở thời gian khác nhau với nấm *Fusarium* spp.

Hình 2 cho thấy dung dịch tạo bởi plasma nguội 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 P5, cho thấy sợi nấm phát triển đồng đều, xốp mịn, lan rộng, màu sắc thể hiện rõ. Trong khi đó mẫu P10 và P15 thì sự phát triển của sợi nấm bắt đầu bị kìm hãm, sợi nấm

bắt đầu phát triển không đồng đều và đến mẫu P20 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 nguội có thời gian 5 - 15 phút. Với mẫu P25 và 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 nguội là ở thời gian 25 phút.

Bảng 3. Kết quả bán kính vòng kháng khuẩn các loại dung dịch tạo bởi plasma nguội ở thời gian khác nhau

Mẫu	C	P5	P10	P15	P20	P25	P30
Bán kính vòng kháng nấm (mm)	0	0	0	0	1 ± 0,05	3 ± 0,05	4 ± 0,05

Bảng 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 (Matan và cộng sự, 2014). Dung dịch tạo bởi plasma nguội 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 nguội nồng độ cao hơn.

Dựa vào các kết quả thu được ở hình 2 và bảng 3 ta có thể thấy dung dịch tạo bởi plasma nguội 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 nguội khác nhau để đạt được hiệu quả bất hoạt tương đương (Scholtz và cộng sự, 2015; Kamgang Youbi và cộng sự, 2009). Về tác động kháng nấm thì dung dịch tạo bởi plasma nguội đã làm bào tử nấm bị vỡ ra, teo lại và dẹt, bề mặt tế bào thô ráp, nhăn nheo (Lee và cộng sự, 2015). Avramidis và cộng sự (2010) đã sử dụng kính hiển vi quang học, họ quan sát thấy dung dịch tạo bởi plasma nguội 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 (2017), 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 nguội và các chất trong tế bào phân tán thành các cụm. Dựa trên những quan sát này, có thể giả thuyết rằng cơ chế kháng nấm của dung dịch tạo bởi plasma nguội là do các ROS, cụ thể là $\cdot\text{OH}$ và oxy đơn $\text{O}_2\cdot$ trong dung dịch tạo bởi plasma nguội có xu hướng tấn công các axit 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 (Laroussi và cộng sự, 2002; Deng và cộng sự, 2006) và/hoặc bị rò rỉ các thành phần nội bào như axit nucleic và protein - do đó dẫn đến giảm hoạt động trao đổi chất dẫn đến chết tế bào (Misra và cộng sự, 2018; Lee và cộng sự, 2015).

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, các mẫu dung dịch tạo bởi plasma nguội đã được điều chế và đánh giá hoạt tính kháng nấm và

kháng khuẩn gây bệnh trên cây trồng. Kết quả cho thấy khả năng kháng *Xanthomonas* spp. đạt được với mẫu có thời gian lưu là 15 phút trong khi để kháng *Fusarium* spp. thì cần thời gian lưu là 20 phút. Điều này cho thấy khả năng kháng khuẩn, kháng nấm là do thành phần, tỷ lệ và nồng độ các hoạt chất có trong dung dịch tạo bởi plasma nguội gây ra. Các kết quả này là tiền đề cho việc nghiên cứu tìm kiếm một phương pháp mới để phòng chống các bệnh trên cây trồng do vi sinh vật gây ra mà vẫn đảm bảo thân thiện với môi trường, con người và vật nuôi.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được hỗ trợ bởi Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VinIF) và sự bảo trợ của Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Bình Phước.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Agata Los, Dana Ziuzina, Daniela Boehm, Patrick J Cullen, Paula Bourke (2020), Inactivation Efficacies and Mechanisms of Gas Plasma and Plasma-Activated Water against *Aspergillus flavus* Spores and Biofilms: a Comparative Study. *Appl Environ Microbiol.* doi: 10.1128/AEM.02619 - 19.
2. Avramidis G, Stüwe B, Wascher R, Bellmann M, Wieneke S, von Tiedemann A, Viöl W. (2010), Fungicidal effects of an atmospheric pressure gas discharge and degradation mechanisms. *Surf Coat Tech* 205: S405 - S408.
3. Burgess L.W., Knight T.E., Tesoriero L. and Phan H.T. (2008), Diagnostic manual for plant diseases in Vietnam. ACIAR Monograph No. 129, pp.2010. ACIAR: Canberra.
4. Chen, C. W., Lee, H.-M., & Chang, M. B. 2008. Inactivation of aquatic microorganisms by low-frequency AC discharges. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 36(1), 214 - 219.
5. Chia-Min Lin, Yu-Chi Chu, Chun-Ping Hsiao, Jong-Shinn Wu, Chang-Wei Hsieh and Chih-Yao Hou (2019), The Optimization of Plasma-

- Activated Water Treatments to Inactivate Salmonella Enteritidis (ATCC 13076) on Shell Eggs. *Foods* 2019, 8(10), 520.
6. D. Park, K. Davis, S. Gilani, C. Alonzo, D. Dobrynin, G. Friedman, A. Fridman, A. (2013), Rabinovich and G. Fridman. Reactive nitrogen species produced in water by non-equilibrium plasma increase plant growth rate and nutritional yield. *Curr Appl Phys.*, 13, 19 (2013).
 7. Daniela Ballottin, Stephanie Fulaz, Flávia Cabrini, Junko Tsukamoto, Nelson Durán, Oswaldo L. Alves, Ljubica Tasic (2017), Antimicrobial textiles: Biogenic silver nanoparticles against *Candida* and *Xanthomonas*. *Materials Science and Engineering: C* vol 75, p.582 - 589.
 8. Dasan BG, Boyaci IH, Mutlu M. (2017), Nonthermal plasma treatment of *Aspergillus* spp. spores on hazelnuts in an atmospheric pressure fluidized bed plasma system: Impact of process parameters and surveillance of the residual viability of spores. *J Food Eng* 196:139 - 149.
 9. Horst R. (2008), Plant Diseases and Their Pathogens. In: Horst R. (eds) *Westcott's Plant Disease Handbook*. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4585-1_3
 10. Huu Thien Pham, Ky Duyen Vo Nguyen (2020), The Preparation of Palladium -Based Catalyst via Dielectric - Barrier Discharge (DBD) for Total Oxidation of n-butanol and CO at Low Temperature. *Journal of Chemical Engineering Transactions* vol. 77.
 11. K. Naumova, A. I. Maksimov & A. V. Khlyustova (2011), Stimulation of the germinability of seeds and germ growth under treatment with plasma-activated water. *Surface Engineering and Applied Electrochemistry* vol. 47, p. 263 - 265.
 12. K. Oehmigen, M. Hähnel, R. Brandenburg, C. Wilke, K.-D. Weltmann and T. von Woedtke (2010), The Role of Acidification for Antimicrobial Activity of Atmospheric Pressure Plasma in Liquids. *Plasma Process. Polym.* 7, 250 - 257.
 13. Kaitlin DeJesus (2019), Preventative Compositions of *Azadirachta indica* Against *Fusarium oxysporum*. *Pathology. The FASEB journal*.
 14. Kalyan K. Mondal, Chander Mani (2012), Investigation of the antibacterial properties of nanocopper against *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae*, the incitant of pomegranate bacterial blight. *Annals of Microbiology* vol 62, p. 889 - 893.
 15. Kamgang-Youbi G, Herry JM, Meylheuc T, Brisset JL, Bellon-Fontaine MN, Doubla A, Naitali M. (2009), Microbial inactivation using plasma-activated water obtained by gliding electric discharges. *Lett Appl Microbiol* 48:13 - 8.
 16. L. Sivachandiran, A. Khacef. (2017), Enhanced seed germination and plant growth by atmospheric pressure cold air plasma: combined effect of seed and water treatment. *RSC Advances Issue 4, vol. 7, p. 1822 - 1832*.
 17. Lee GJ, Sim GB, Choi EH, Kwon Y-W, Kim JY, Jang S, Kim SH. (2015), Optical and structural properties of plasma-treated *Cordyceps bassiana* spores as studied by circular dichroism, absorption, and fluorescence spectroscopy. *Journal of Applied Phys.*
 18. Matthew J Traylor, Matthew J Pavlovich, Sharmin Karim, Pritha Hait, Yukinori Sakiyama, Douglas S Clark and David B Graves (2011), Long-term antibacterial efficacy of air plasma-activated water., *J. Phys. Appl. Phys.* 44, 472001.
 19. M. Laroussi, J. P. Richardson, and F. C. Dobbs (2002), Effects of nonequilibrium atmospheric pressure plasmas on the heterotrophic pathways of bacteria and on their cell morphology. *Appl. Phys. Lett.* 81, 772.
 20. Madian Perez, Enrico Biondi, Romolo Laurita, Mariarita Proto, Fabio Sarti, Matteo Gherardi, Assunta Bertaccini, Vittorio Colombo (2019), Plasma activated water as resistance inducer against bacterial leaf spot of tomato. *Plos one*.
 21. Maysa S., Ricardo M. Gonçalves, José M. Soman, Renate K. Sakate, Ricardo Gioria, Tadeu AF da Silva Júnior, Antonio C. Maringoni (2014), Prevalence of *Xanthomonas euvesicatoria* on Pepper in Brazil. *Journal of Phytopathology*.
 22. Misra NN, Yadav B, Roopesh MS, Jo C (2019), Cold Plasma for Effective Fungal and Mycotoxin Control in Foods: Mechanisms, Inactivation Effects, and Applications. *CRFSFS* 18:106 - 120.

23. Narumol Matan, Mudtorlep Nisoa, Nirundorn Matan, Tanong Aewsiri (2014), Effect of cold atmospheric plasma on antifungal activities of clove oil and eugenol against molds on areca palm (*Areca catechu*) leaf sheath. *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 86, Part C, Pages 196 - 201.
24. Nguyen Thanh Hai, Dang Hoang Trang, and Nguyen Thi Thanh Ha (2018), Herbal Extracts in Combination with Nanosilver Inhibit Bacterial Leaf Blight Disease Caused by *Xanthomonas oryzae pv oryzae* in Rice. *Vietnam Journal of Agricultural Sciences* vol 1 No 4.
25. Nguyen Vo Ky Duyen (2020), Nghiên cứu tạo nước hoạt hóa plasma và ứng dụng nâng cao tỷ lệ nảy mầm hạt và tăng trưởng của xà lách xoăn (*Lactuca capitata*). Luận văn Thạc sĩ sinh học thực nghiệm, Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.
26. Oehmigen, K., Winter, J., Hahnel, M., Wilke, C., Brandenburg, R., Weltmann, K.-D., & von Woedtke, T. (2011), Estimation of possible mechanisms of *Escherichia coli* inactivation by plasma treated sodium chloride solution. *Plasma Processes and Polymers*, 8(10), 904 - 913.
27. Osdaghi E, Taghavi SM, Hamzehzarghani H AND Lamichlane JR (2016), Occurrence and characterization of the bacterial spot pathogen *Xanthomonas euvesicatoria* on pepper in Iran. *J Phytopathol* 164, 722 - 734.
28. P. Lukes, E. Dolezalova, I. Sisrova and M. Clupek (2014), Aqueous-phase chemistry and bactericidal effects from an air discharge plasma in contact with water: evidence for the formation of peroxyxynitrite through a pseudo-second-order post-discharge reaction of H_2O_2 and HNO_2 . *Plasma Sources Sci. Technol.* 23, 15019.
29. Potnis n, Timilsina S, Strayer A, Shantharaj D, Barak JD, Paret ML, Vallad GE AND Jones JB (2015), Bacterial spot of tomato and pepper: diverse *Xanthomonas* species with a wide variety of virulence factors posing a worldwide challenge. *Mol Plant Pathol* 16, 907 - 920.
30. Qisen Xiang, Chaodi Kang, Liyuan Niu, Dianbo Zhao, Ke Li, Yanhong Bai (2018), Antibacterial activity and a membrane damage mechanism of plasma-activated water against *Pseudomonas deceptionensis* CM2. *LWT*, Volume 96, 395 - 401.
31. R. Laurita, D. Barbieri, M. Gherardi, V. Colombo and P. Lukes (2015), Chemical analysis of reactive species and antimicrobial activity of water treated by nanosecond pulsed DBD air plasma. *Clin. Plasma Med.* 3, 53 - 61.
32. Renato Carvalho, Kamil Duman, Jeffrey B. Jones & Mathews L. Paret (2019), Bactericidal Activity of Copper-Zinc Hybrid Nanoparticles on Copper-Tolerant *Xanthomonas perforans*. *Scientific Reports* vol. 9.
33. Sandhya Mishra, Xiaodong Yang, Shatrupa Ray, Leonardo Fernandes Fraceto & H. B. Singh (2020), Antibacterial and biofilm inhibition activity of biofabricated silver nanoparticles against *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* causing blight disease of rice instigates disease suppression. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* vol. 36, Iss. 4.
34. Scholtz V, Pazlarova J, Souskova H, Khun J, Julak J (2015), Nonthermal plasma-A tool for decontamination and disinfection. *Biotechnol Adv* 33:1108 - 19.
35. Thien Huu Pham, Ha Manh Bui, Ahmed Khacef (2018), Oxidation of propene from air by atmospheric plasma-catalytic hybrid system. *Journal of the Serbian Chemical Society* 83, No.5
36. Vasile Stoleru, Radu Burlica, Gabriela Mihalache, Delicia Dirlau, Silvica Padureanu, Gabriel-Ciprian Teliban, Dragos Astanei, Alexandru Cojocaru, Oana Beniuga & Antoanela Patras (2020), Plant growth promotion effect of plasma activated water on *Lactuca sativa* L. cultivated in two different volumes of substrate. *Scientific Reports* vol. 10.
37. Wu, S., Zhang, Q., Ma, R., Yu, S., Wang, K., Zhang, J., & Fang, J. (2017), Reactive radical-driven bacterial inactivation by hydrogen-peroxide-enhanced plasma-activated-water. *The European Physical Journal Special Topic* 226 (13), 2887 - 2899.
38. X. Deng, J. Shi, and M. G. Kong (2006), Physical Mechanisms of Inactivation of *Bacillus subtilis* Spores Using Cold Atmospheric Plasmas. *IEEE Trans. Plasma Sci.* 34, 1310.
39. Z. Machala, B. Tarabova, K. Hensel, E. Spetlikova, L. Sikurova and P. Lukes (2013), Formation of ROS and RNS in Water Electro-S prayed through Transient Spark Discharge in Air and their Bactericidal Effects Plasma Process. *Polym.*, 10, 649.

MỤC LỤC

1. KỶ NIỆM 20 NĂM NGÀY THÀNH LẬP HỘI NGHIÊN CỨU BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM (29/9/2001 - 29/9/2021) 3
GS.TS. Vũ Triệu Mân
2. TƯỢNG NHỚ GIÁO SƯ, TIẾN SĨ VŨ HOAN 15
GS.TS. Vũ Triệu Mân
3. CHẨN ĐOÁN XÁC ĐỊNH VIRUS GÂY BỆNH KHẢM XOĂN VÀNG LÁ TRÊN CÂY CÀ CHUA (*Solanum lycopersicum* L.) Ở HUYỆN ĐƠN DƯƠNG, TỈNH LÂM ĐỒNG 17
*Bùi Cách Tuyền, Phạm Đức Toàn, Danh Hiếu
Lê Cao Lượng, Huỳnh Văn Biết*
4. ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ CHỦNG VI KHUẨN NỘI SINH CHỌN LỌC ĐẾN TUYẾN TRÙNG *Pratylenchus coffeae* VÀ SINH TRƯỞNG CỦA CÂY CÀ PHÊ VỚI GIAI ĐOẠN KIẾN THIẾT CƠ BẢN TẠI ĐẮK LẮK 25
*Đỗ Thị Kiều An, Nguyễn Văn Nam
Trần Thị Huệ, Nguyễn Thị Hương Cẩm*
5. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG NẤM CỦA XẠ KHUẨN NỘI SINH *Streptomyces* sp. T3T6 PHÂN LẬP TỪ CÂY CÀ PHÊ TẠI TỈNH LÂM ĐỒNG 36
*Nguyễn Thị Hồng Hà, Hoàng Thị Huyền Trang
Trần Thị Hoa, Phạm Bích Ngọc, Chu Hoàng Hà, Đỗ Tiến Phát*
6. HIỆU QUẢ SỬ DỤNG VI KHUẨN HÒA TAN SILIC VÀ PHÂN SILIC LÊN KHẢ NĂNG CHỐNG CHỊU CỦA CÂY LÚA ĐỐI VỚI BỆNH ĐẠO ÔN DO NẤM *Pyricularia* sp. GÂY RA Ở ĐIỀU KIỆN NHÀ LƯỚI 43
Nguyễn Thị Thu Hà, Nguyễn Trường Trinh, Nguyễn Khởi Nghĩa
7. HIỆU QUẢ CỦA THỰC KHUẨN THÊ PHÒNG TRỪ BỆNH HÉO XANH TRÊN CÂY HOA VẠN THỌ (*Tagetes erecta* L.) DO VI KHUẨN *Ralstonia solanacearum* Smith 52
*Nguyễn Thị Thúy Hằng, Đoàn Thị Kiều Tiên
Đặng Hải Đông, Trần Đức Huy, Nguyễn Thị Thu Nga*
8. MỘT SỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG VI KHUẨN ĐỐI KHÁNG *Serratia nematodiphila* CT-78 PHÒNG TRỊ BỆNH BẠC LÁ VÀ KÍCH THÍCH CÂY LÚA TĂNG TRƯỞNG 59
Nguyễn Đắc Khoa, Nguyễn Thị Phi Oanh

9. PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN THỰC KHUẨN THỂ TRONG PHÒNG TRỪ BỆNH CHÁY LÁ DO *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* TRÊN CÂY KIỂU (*Allium chinense*) 68
Nguyễn Thị Thu Nga, Trần Ngọc Trúc, Giảng Thanh Nhưồng, Đoàn Thị Kiều Tiên, Võ Thị Bích Thủy, Trần Thị Ba
10. KHẢO SÁT KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA HAI DÒNG VI KHUẨN PHÂN LẬP M5.1 và M6 TỪ HẠT MÈ LÊN MEN VỚI NẤM *Fusarium solani* GÂY BỆNH VÀNG LÁ THỐI RỄ TRÊN CÂY CAM SÀNH TRONG ĐIỀU KIỆN *IN VITRO* 78
Đặng Thị Yến Nhung, Nguyễn Thị Mụi, Nguyễn Khởi Nghĩa
11. ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KIỂM SOÁT BỆNH THÁN THƯ' TRÊN ỚT DO NẤM *Colletotrichum* sp. CỦA HAI DÒNG VI KHUẨN *Bacillus* sp. M3 VÀ *Bacillus* sp. G5 Ở ĐIỀU KIỆN NHÀ LƯỚI 87
Nguyễn Hữu Thiện, Trần Thị Cẩm Nhung, Nguyễn Khởi Nghĩa
12. KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA MÔI TRƯỜNG LÊN QUÁ TRÌNH TĂNG TRƯỞNG CỦA VI KHUẨN ĐỐI KHÁNG *Serratia nematodiphila* CT-78 ĐỂ PHÒNG TRỊ BỆNH BẠC LÁ LÚA 95
Nguyễn Quang Tiến, Lê Thị Hồng Thanh, Nguyễn Đắc Khoa
13. PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN VI KHUẨN *Pseudomonas* PHÁT HUỖNH QUANG CÓ KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG VỚI NẤM *Rhizoctonia solani* Kuhn 105
Lê Thanh Toàn, Nguyễn Phương Kiều Duyên, Ngô Thanh Tâm
14. ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC CHỦNG VI KHUẨN VÙNG RỄ CÂY HỒ TIÊU (*Piper nigrum* L.) ĐẾN KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG VÀ KHÁNG TUYẾN TRÙNG CỦA CÂY HỒ TIÊU GIAI ĐOẠN VƯỜN ƯƠM 114
Trịnh Thị Huyền Trang, Trần Thị Phương Hạnh, Nguyễn Thị Tình, Trần Thị Huệ, Nguyễn Thị Vân
15. ĐẶC ĐIỂM VI KHUẨN *Ralstonia solanacearum* Smith GÂY BỆNH HÉO XANH TRÊN CÂY ỚT 124
Đỗ Phạm Thanh Trang, Nguyễn Thanh Phong, Cao Thị Thanh Thảo, Võ Thị Thu Oanh, Nguyễn Vũ Phong
16. KHẢO SÁT KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA XẠ KHUẨN ĐỐI VỚI NẤM *Curvularia* sp. GÂY BỆNH LEM LÉP HẠT LÚA 133
Lê Minh Tường, Lý Hùng
17. ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG PHÒNG TRỪ BỆNH THỐI GỐC THÂN KHOAI LANG DO *Rhizoctonia solani* CỦA CÁC CHỦNG XẠ KHUẨN TRONG ĐIỀU KIỆN NHÀ LƯỚI 142
Lê Minh Tường, Đinh Hoàng Kha

18. ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA CÁC CHỦNG XẠ KHUẨN ĐỐI VỚI VI KHUẨN *Xanthomonas* sp. GÂY BỆNH ĐÓM ĐEN TRÊN XOÀI 152
Lê Minh Tường, Lê Thị Ngọc Xuân, Nguyễn Trường Sơn
19. BỆNH CHẾT HÉO DO NẤM *Ceratocystis manginecans* GÂY HẠI TRÊN MỘT SỐ LOÀI CÂY TRỒNG LÂM NGHIỆP Ở VIỆT NAM 161
Nguyễn Minh Chí, Đào Ngọc Quang*
20. ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA NẤM *Trichoderma* VÀ XẠ KHUẨN ĐỐI VỚI NẤM *Rhizoctonia solani* GÂY BỆNH THỐI LÁ TRÊN RAU XÀ LÁCH (*Lactuca sativa*) 169
*Võ Tấn Đạt, Nguyễn Thanh Phong
Lê Thanh Đạm, Võ Thị Thu Oanh*
21. KHẢO SÁT TÍNH GÂY BỆNH CỦA NẤM *Rhizoctonia solani* Kühn TRÊN MỘT SỐ LOẠI RAU 180
*Võ Tấn Đạt, Nguyễn Thanh Phong
Lê Thanh Đạm, Võ Thị Thu Oanh*
22. ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI NẤM *Pyricularia oryzae* GÂY BỆNH ĐẠO ÔN LÚA TẠI AN GIANG VÀ HIỆU LỰC PHÒNG TRỪ CỦA CÁC VẬT LIỆU NANO DẠNG Ag/SiO₂ 189
*Võ Thị Ngọc Hà, Trần Ngọc Phương Lan
Phạm Kim Huyền, Trần Công Khánh*
23. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH TÁC NHÂN GÂY BỆNH VÀ THUỐC TRỪ BỆNH CHÁY THÂN CÂY MĂNG TÂY TẠI NINH THUẬN 198
*Mai Văn Hào, Phan Công Kiên
Nguyễn Văn Chính, Nguyễn Thị Tuyết Nhi*
24. KHẢO SÁT MỘT SỐ CHI NẤM GÂY BỆNH TRÊN LỤC BÌNH (*Eichornia crassipes*) TẠI KHU VỰC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH 209
*Phạm Kim Huyền, Phạm Thị Hồng Nhung, Huỳnh Hữu Vinh
Phạm Thị Anh, Nguyễn Bảo Quốc, Võ Thị Ngọc Hà*
25. XÁC ĐỊNH TÁC NHÂN GÂY BỆNH CHÁY NHỰA THÂN CÂY BƯỞI DA XANH TẠI TỈNH BẾN TRE 218
*Nguyễn Thị Thúy Huỳnh, Nguyễn Thanh Phong, Lê Thanh Đạm
Phạm Hải Đăng, Trần Thanh Lâm, Nguyễn Thị Ngọc Loan
Võ Thị Thu Oanh, Nguyễn Vũ Phong*
26. ĐỊNH DANH LOÀI NẤM *Fusarium* spp. GÂY BỆNH HÉO RỄ TRÊN CÂY HOA CÁT TƯỜNG TẠI ĐÀ LẠT, LÂM ĐỒNG 232
Phan Đăng Khoa, Nguyễn Thanh Phong, Võ Thị Thu Oanh

27. PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH NẤM GÂY BỆNH THÁN THU
TRÊN CÂY NHO (*Vitis vinifera* L.) TẠI TỈNH NINH THUẬN 240
*Đặng Thị Hồng Nhiên, Nguyễn Mai Nghiệp
Nguyễn Ngọc Bảo Châu, Nguyễn Bảo Quốc*
28. NẤM *Fusarium oxysporum* TÁC NHÂN GÂY BỆNH THỐI GỐC, RỄ
TRÊN CÂY SACHI (*Plukentia volubilis* L.) TẠI QUỲNH LƯU, NGHỆ AN 253
*Hồ Thị Nhung, Nguyễn Tài Toàn
Võ Thị Dung, Nguyễn Thị Kim Hiên*
29. NGHIÊN CỨU BỆNH VÀNG LÁ THỐI RỄ HẠI CÂY CAM TẠI NGHỆ AN 259
*Hồ Thị Nhung, Nguyễn Sỹ Hùng, Nguyễn Hữu Hiên
Nguyễn Thị Thúy, Thái Thị Ngọc Lam*
30. *Phytophthora* spp. MỐI ĐE DỌA TIỀM TÀNG
ĐỐI VỚI LÂM NGHIỆP VIỆT NAM 268
*Đặng Như Quỳnh, Nguyễn Hoài Thu
Đào Ngọc Quang, Lê Văn Bình*
31. SÀNG LỌC MỘT SỐ CHỦNG *Trichoderma* sp. ĐỐI KHÁNG
VỚI NẤM *Fusarium* sp. GÂY BỆNH THỐI THÂN, LÁ DỨA (KHÓM) 277
*Nguyễn Thị Thanh Xuân, Văng Thị Tuyết Loan
Phạm Văn Quang, Lý Ngọc Thanh Xuân, Trần Trí Tâm
Trần Chí Nhân, Trần Ngọc Hữu, Nguyễn Quốc Khương*
32. THÀNH PHẦN VÀ MỨC ĐỘ PHỔ BIẾN CỦA TUYẾN TRÙNG TRÊN CÀ RỐT
TẠI LÂM ĐỒNG 286
*Nguyễn Lương Khôi, Trần Quốc Toàn
Nguyễn Thanh Phong, Lê Thanh Đạm, Nguyễn Vũ Phong*
33. SỰ TƯƠNG TÁC GIỮA TUYẾN TRÙNG *Pratylenchus* sp.
VÀ NẤM *Fusarium solani* GÂY BỆNH VÀNG LÁ THỐI RỄ
CÂY QUÝT HỒNG (*Citrus reticulata* Blanco cv. Hong) 293
Lê Minh Ngân, Trần Vũ Phấn
34. PHẢN ỨNG CỦA NẤM GIỐNG HỒ TIÊU ĐỐI VỚI TUYẾN TRÙNG SÙNG RỄ
Meloidogyne incognita 304
*Nguyễn Thị Nguyễn Vân, Nguyễn Thanh Phong
Lê Thanh Đạm, Võ Thị Thu Oanh, Nguyễn Vũ Phong*
35. SỬ DỤNG DỊCH CHIẾT BẠCH ĐÀN QUẢN LÝ BỆNH
ĐÓM NẤU (*Alternaria sesami*) TRÊN CHANH LEO TẠI NGHỆ AN 313
*Võ Thị Dung, Vũ Triệu Mân, Hồ Thị Nhung
Nguyễn Hoàng Tiến, Trần Thị Cúc*

36. XÁC ĐỊNH LIỀU LƯỢNG BANJO FORTE 400SC PHÒNG TRỪ HIỆU QUẢ BỆNH MỐC SƯƠNG DO *Phytophthora infestans* GÂY RA TRÊN CÂY RAU HỌ CÀ 319
Nguyễn Phi Dũng, Nguyễn Lệnh Đông, Vũ Đức Cường
37. HIỆU QUẢ QUẢN LÝ BỆNH CHÁY LÁ KHOAI MÔN CỦA CHẾ PHẨM XẠ KHUẨN *Streptomyces* sp. AP4 ĐỐI KHÁNG TRIỀN VỌNG Ở ĐIỀU KIỆN PHÒNG THÍ NGHIỆM VÀ NHÀ LƯỚI 325
*Nguyễn Phú Dũng, Văn Viễn Lương
Lê Minh Tường, Chế Lý Hùng*
38. NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA CHẾ PHẨM *Trichoderma - Streptomyces* TRONG XỬ LÝ CỬ GỪNG GIỒNG ĐẾN SINH TRƯỞNG PHÁT TRIỂN, NĂNG SUẤT VÀ CHẤT LƯỢNG CỬ 337
Trần Thị Thu Hà, Võ Hoàng Thu Trinh, Trương Thị Bích Phượng
39. KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG *Xanthomonas* spp. VÀ *Fusarium* spp. CỦA DUNG DỊCH TẠO BỞI PLASMA NGUỘI TRONG ĐIỀU KIỆN IN VITRO 345
*Thân Quốc An Hạ, Đinh Quốc Hòa
Nguyễn Võ Kỳ Duyên, Phạm Hoài Thương, Phạm Hữu Thiện*
40. NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG NANO BAC PHÒNG TRỪ BỆNH THÁN THƯ GÂY HẠI CÂY ỚT *Capsicum frutescens* L. VÀ THỬ NGHIỆM MÔ HÌNH 355
*Chu Trung Kiên, Nguyễn Hiếu Hạnh, Trần Anh Tuấn
Hồ Thị Thanh Huyền, Huỳnh Hữu Tín
Chu Văn Khương, Nguyễn Thị Lan Anh*
41. KHẢO SÁT HIỆU QUẢ PHÒNG TRỪ BỆNH ĐÓM VẦN TRÊN CÂY LÚA CỦA QUẢN THỂ NẤM RỄ NỘI CỘNG SINH - THÍ NGHIỆM NHÀ LƯỚI 362
*Phạm Bảo Lộc, Phạm Thị Hải Nghi, Nguyễn Phúc Tuyên
Nguyễn Quốc Khương, Đỗ Thị Xuân*
42. NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ LOẠI PHÂN HỮU CƠ ĐẾN CÂY GỪNG SẼ TẠI THỪA THIÊN HUẾ 373
*Trương Thị Bích Phượng, Võ Hoàng Thu Trinh
Trần Thị Thu Hà, Phạm Lê Hoàng*
43. KHẢO SÁT CON ĐƯỜNG XÂM NHIỄM CỦA *Pseudomonas* GÂY BỆNH HÉO XANH, *Fusarium* GÂY BỆNH THỐI RỄ CÂY TÍA TÔ XANH (*Perilla frutescens*) VÀ ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ IN VITRO CỦA MỘT SỐ HOẠT CHẤT ĐỐI VỚI HAI MẦM BỆNH NÀY 382
Nguyễn Quốc Thái, Trần Thị Kiều, Nguyễn Văn Thành

44. NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT CHẾ PHẨM CHAETOMIUM CP2-VMNPB
TRỪ NẤM *Fusarium* spp. HẠI RỄ CÂY CHÈ 390
*Nguyễn Văn Thiệp, Cao Phi Bằng, Trịnh Thị Kim Mỹ
Nguyễn Thị Kim Oanh, Nguyễn Huy Thịnh, Vũ Xuân Dương*
45. NGHIÊN CỨU ÁP DỤNG CÁC BIỆN PHÁP THỰC HÀNH NÔNG NGHIỆP
THÔNG MINH NHẪM GIẢM THIỂU SÂU BỆNH HẠI VÀ THÍCH ỨNG VỚI
BIẾN ĐỔI KHÍ HẬU TRONG SẢN XUẤT LÚA TẠI VIỆT NAM 400
Nguyễn Văn Tuất, Phạm Đức Hùng
46. HIỆU QUẢ GIẢM BỆNH BẠC LÁ LÚA (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)
CỦA CÁC LOẠI DỊCH TRÍCH THỰC VẬT BẢN ĐỊA
TẠI ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG 407
Trương Văn Xạ, Nguyễn Đắc Khoa
47. KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG NẤM GÂY BỆNH CÂY TRỒNG CỦA CÁC
HỆ VI SINH VẬT BẢN ĐỊA TỪ CÁC HỆ THỐNG CANH TÁC CÂY TRỒNG
KHÁC NHAU Ở SÓC TRĂNG 419
Lê Thị Xã, Nguyễn Khởi Nghĩa
48. NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN TẬP ĐOÀN MẪU GIỐNG CHANH LEO
BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ KẾT HỢP ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI NÔNG HỌC 419
*Nguyễn Văn Viêt, Trần Đức Trung
Bùi Quang Đăng, Hoàng Mạnh Hùng và ctv.*

HỘI THẢO QUỐC GIA BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM

Chịu trách nhiệm xuất bản
Giám đốc - Tổng biên tập
TS. LÊ LÂN

Biên tập và sửa bản in
PHẠM THANH THỦY - ĐÌNH VĂN THÀNH
Trình bày, bìa
VŨ HẢI YẾN

NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP
167/6 Phương Mai - Đống Đa - Hà Nội
ĐT: (024) 38523887, (024) 38521940 - Fax: 024.35760748
Website: <http://www.nxbnongnghiep.com.vn>
E - mail: nxbnn1@gmail.com
CHI NHÁNH NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP
58 Nguyễn Bình Khiêm - Q.I - Tp. Hồ Chí Minh
ĐT: (028) 38299521, 38297157 - Fax: (028) 39101036

In 150 bản khổ 19 × 26,5cm tại Công ty Cổ phần In Sao Việt.
Địa chỉ: Số 9/40 Ngụy Như Kon Tum, Thanh Xuân, Hà Nội.
Đăng ký KHXB số 3447-2021/CXBIPH/2-138/NN ngày 05/10/2021.
Quyết định XB số: 47/QĐ-NXBNN ngày 07/12/2021.
ISBN: 978-604-60-3373-8
In xong và nộp lưu chiểu quý IV/2021.

PHỤ LỤC 1

Một số thiết bị và bộ kit sử dụng trong nghiên cứu

1.1 Kính hiển vi soi nổi Olympus

Mô tả: Kính hiển vi soi nổi Olympus SZX12 được cấu hình trên giá đỡ. Có thể quan sát hai mắt với cặp thị kính là 10x và thị kính 20x. Kính hiển vi có phạm vi thu phóng 7x -90x.

Cách sử dụng:

- Đặt kính hiển vi trên mặt bàn hoặc một bề mặt phẳng, cố định. Nên để kính ở khoảng không gian rộng rãi để các thao tác được tiến hành dễ dàng.
- Sau khi cố định kính, cắm dây nguồn của kính vào nguồn điện, sau đó bật nguồn sáng.
- Đặt mẫu vật cần quan sát, dùng kẹp cố định cho chắc chắn. Điều chỉnh thị kính ở mức 10x để quan sát được vật mẫu. Xoay núm điều chỉnh độ phóng đại xuống mức 7x, đưa mẫu vật vào tiêu điểm bằng điểm lấy nét. Tiếp tục, điều chỉnh thị kính cho khoảng các giữa 2 mắt phù hợp với bạn.
- Sau khi sử dụng xong, lấy mẫu vật ra, tắt công tắc đèn. Ngắt nguồn điện, vệ sinh và bảo quản kính đúng cách

1.2 Máy đo diện tích lá CI-202

Mô tả: Máy đo diện tích lá CI-202 có thể: Đo trực tiếp diện tích, chiều dài, chiều rộng, chu vi và tính toán hệ số hình dạng và tỷ lệ khung hình; Không phá hủy mẫu và linh hoạt; Làm phẳng các lá cong và cung cấp các phép đo chính xác; Độ phân giải 0.01cm², Không cần hiệu chuẩn

Cách sử dụng: Để đo một chiếc lá, hãy nhấc tấm phim trong suốt lên, đặt chiếc lá lên bảng màu, đặt tấm phim trong suốt lên chiếc lá. Sau đó nhấn phím “Start” để bắt đầu quá trình đo lường. Động cơ sẽ bắt đầu sau khi nhấn “Start” và màn hình sẽ hiển thị “Stabilizing”, tiếp theo “Spinning Up”, sau đó “Measuring”. Tại thời điểm này, di chuyển đầu quét xuống bảng quét. Khi đầu đã được rút ra hoàn toàn, thiết bị sẽ tự động dừng và hiển thị kết quả của đo đạc.

Lưu ý: nếu không di chuyển máy quét trong vòng vài giây, máy quét sẽ tắt. Phím start thực hiện điều tương tự, nhưng nếu nó được nhấn xuống, máy quét sẽ tiếp

tục quay cho đến khi sẵn sàng đo. Vì diện tích của mỗi lá khác nhau, nên đo diện tích của 10 lá trong 1 nghiệm thức, sau đó tính trung bình.

$$\bar{a} = \frac{a_1 + a_2 + \dots + a_n}{n} = \frac{\sum a}{n}$$

Công thức tính diện tích lá:

Trong đó: a: là số trung bình cộng

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

n: là số các số hạng

1.3 Máy hiện sóng (Oscilloscope GW Intek)

Mô tả: Máy hiện sóng (Dao động ký, Oscilloscope) vẽ ra đồ thị của một tín hiệu điện. Trong hầu hết các ứng dụng, đồ thị chỉ ra tín hiệu thay đổi thế nào theo thời gian: Trục dọc (Y) biểu diễn điện áp và trục ngang (X) biểu diễn thời gian. Cường độ hay độ sáng của sự hiển thị đôi khi được gọi là trục Z. Đây là đồ thị đơn giản có thể chỉ ra cho ta nhiều điều về một tín hiệu.

2. Công dụng của Máy hiện sóng:

Nhận dạng tín hiệu (Xung vuông, răng cưa, hình sin, tín hiệu hình, tín hiệu tiếng...)

Xác định rõ các giá trị thời gian và mức điện áp và đường đi của một tín hiệu

Tính toán được tần số của một tín hiệu dao động

Nhận thấy “các phân động” của một mạch điện được biểu diễn bởi tín hiệu

Chỉ ra nếu một thành phần lỗi làm méo dạng tín hiệu

Tìm ra tín hiệu như thế nào là dòng một chiều hay dòng xoay chiều

Chỉ ra tín hiệu như thế nào là nhiễu và nếu có thì nhiễu thay đổi thế nào theo thời gian...

Máy hiện sóng số lấy mẫu dạng sóng và dùng một bộ chuyển đổi tương tự/số (A/D) để chuyển đổi điện áp được đo thành thông tin số. Sau đó, nó dùng thông tin số này để tái cấu trúc lại dạng sóng trên màn hình.

Cách sử dụng:

- Thiết lập máy hiện sóng oscilloscope
- Sau khi hiệu chỉnh nguồn điện đầu vào, nối dây điện với máy, sử dụng máy hiện sóng oscilloscope để đo CH1 và CH2.

1.5 Thiết bị đo dòng

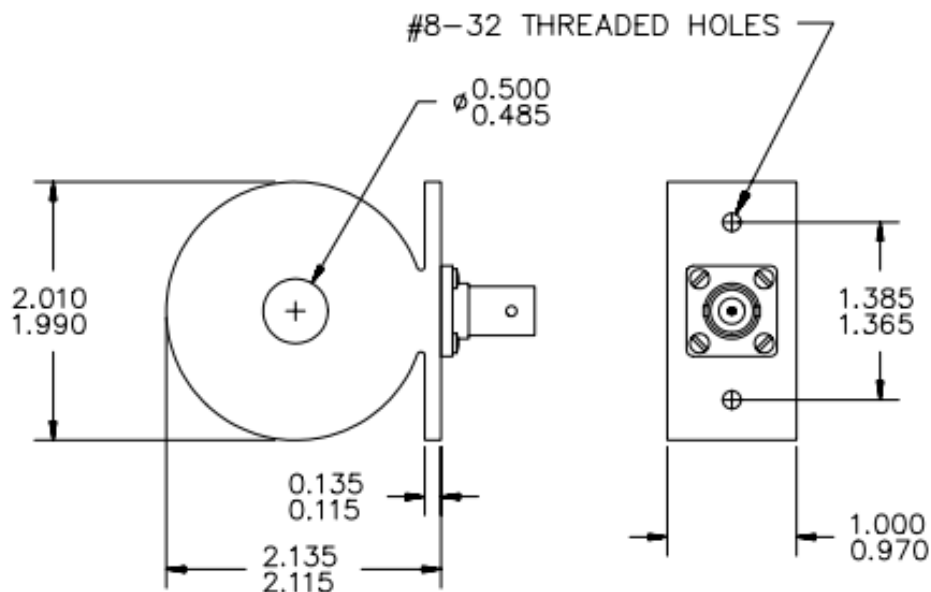
PEARSON ELECTRONICS, INC.

PEARSON™ CURRENT MONITOR MODEL 4100

Sensitivity	1 Volt/Ampere +1/-0%
Output resistance	50 Ohms
Maximum peak current	500 Amperes
Maximum rms current	5 Amperes
Droop rate	0.09 %/microsecond
Useable rise time	10 nanoseconds
Current time product	0.002 Amp-second max*
Low frequency 3dB point	140 Hz (approximate)
High frequency 3dB point	35 MHz (approximate)
I/f figure	0.006 peak Amperes/Hz
Output connector	BNC (UG-290A/U)
Operating temperature	0 to 65 °C
Weight	8.0 ounces

* Maximum current-time product can be obtained by using core-reset bias as described in the *Application Notes*.
0.0006 Ampere-second is typical without bias.

© 1999 Pearson Electronics, Inc. 4100.SPX_990506



Pearson Electronics, Inc. • 4009 Transport Street • Palo Alto, CA 94303
Telephone 650-494-6444 • FAX 650-494-6716 • www.pearsonelectronics.com

Số: 722/QĐ-HVKHCN

Hà Nội, ngày 09 tháng 6 năm 2023

QUYẾT ĐỊNH
Về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện

GIÁM ĐỐC
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Căn cứ Quyết định số 303/QĐ-VHL ngày 01/03/2023 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam về việc ban hành Quy chế tổ chức và hoạt động của Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Thông tư số 08/2017/TT-BGDĐT ngày 04/4/2017 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo về việc ban hành Quy chế Tuyển sinh và Đào tạo trình độ Tiến sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1948/QĐ-HVKHCN ngày 28/12/2018 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc ban hành Quy định đào tạo trình độ tiến sĩ tại Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Quyết định số 1815/QĐ-HVKHCN ngày 28/12/2018 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận nghiên cứu sinh;

Căn cứ Quyết định số 2132/QĐ-HVKHCN ngày 07/12/2022 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc gia hạn lần 1 thời gian học tập (Từ ngày 28/12/2022 đến ngày 28/6/2023) cho NCS. Thân Quốc An Hạ;

Xét đề nghị của Trường phòng Đào tạo.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện cho nghiên cứu sinh Thân Quốc An Hạ với đề tài:

“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.)”

Chuyên ngành: Hóa vô cơ Mã số: 9 44 01 13

Danh sách thành viên Hội đồng đánh giá luận án kèm theo Quyết định này.

Điều 2. Hội đồng có trách nhiệm đánh giá luận án tiến sĩ theo đúng quy chế hiện hành của Bộ Giáo dục và Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ.

Quyết định có hiệu lực tối đa 90 ngày kể từ ngày ký. Hội đồng tự giải thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ.

Điều 3. Trường phòng Tổ chức - Hành chính và Truyền thông, Trường phòng Đào tạo, Trường phòng Kế toán, các thành viên có tên trong danh sách Hội đồng và nghiên cứu sinh có tên tại Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này.

Nơi nhận:

- Như Điều 3;
- Lưu hồ sơ NCS;
- Lưu: VT, ĐT, TN16.





**DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ
CẤP HỌC VIỆN**

(Kèm theo Quyết định số 722/QĐ-HVKHCN ngày 09/6/2023
của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)

Cho luận án của nghiên cứu sinh: Thân Quốc An Hạ

“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.)”.

Chuyên ngành: Hóa vô cơ

Mã số: 9 44 01 13

Người hướng dẫn 1: PGS. TS. Phạm Hữu Thiện - Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng,
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn 2: GS.TS. Ahmed KHACEF - Trường Đại học Université
d'Orléans (France)

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1	GS.TS. Nguyễn Cửu Khoa	Hóa hữu cơ	Viện Khoa học vật liệu ứng dụng, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2	PGS.TS. Bạch Long Giang	Kỹ thuật hóa học	Trường Đại học Nguyễn Tất Thành Bộ Giáo dục và Đào tạo	Phản biện 1
3	PGS.TS. Nguyễn Thị Kim Phượng	Hóa vô cơ	Viện Khoa học vật liệu ứng dụng, Viện Hàn lâm KHCNVN	Phản biện 2
4	TS. Cao Văn Dư	Hóa vô cơ	Trường Đại học Lạc Hồng, Bộ Giáo dục và Đào tạo	Phản biện 3
5	TS. Lê Thị Phương	Hóa ứng dụng	Viện Khoa học vật liệu ứng dụng, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên - Thư ký
6	PGS.TS. Phạm Trung Kiên	Công nghệ vật liệu	Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia TP. HCM	Ủy viên
7	PGS.TS. Trần Quang Hiếu	Kỹ thuật hóa học	Trường Đại học Công nghệ Sài Gòn, Bộ Giáo dục và Đào tạo	Ủy viên

Hội đồng gồm 07 thành viên. / *Jh*

TP.HCM, ngày 01 tháng 08 năm 2023

**DANH SÁCH CHỮ KÝ THÀNH VIÊN HỘI ĐỒNG
BẢO VỆ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN**

Nghiên cứu sinh: Thân Quốc An Hạ

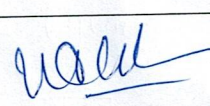
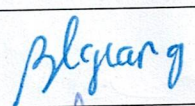
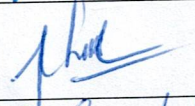
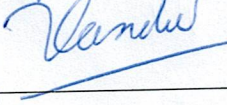
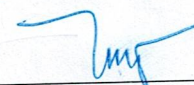
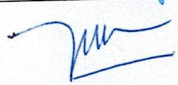
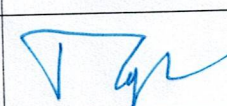
Tên đề tài: “Nghiên cứu điều chế và khảo sát ảnh hưởng của dung dịch hoạt hóa plasma kết hợp khoáng đa lượng cho sự nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn đầu của xà lách xoăn (*Lactuca sativa* L.)”

Chuyên ngành: Hóa vô cơ

Mã số: 9 44 01 13

Ngày bảo vệ: 01/8/2023

Số Quyết định thành lập Hội đồng: 722/QĐ-HVKHCN ngày 09/6/2023 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ.

Số TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chức danh trong Hội đồng	Chữ ký
1	GS.TS. Nguyễn Cửu Khoa	Chủ tịch	
2	PGS.TS. Bạch Long Giang	Phản biện 1	
3	PGS.TS. Nguyễn Thị Kim Phượng	Phản biện 2	
4	TS. Cao Văn Dur	Phản biện 3	
5	TS. Lê Thị Phương	Ủy viên, Thư ký	
6	PGS.TS. Phạm Trung Kiên	Ủy viên	
7	PGS.TS. Trần Quang Hiếu	Ủy viên	

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Tên nghiên cứu sinh: Thân Quốc An Hạ

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

Chuyên ngành: Hóa vô cơ

Mã số: 9 44 01 13

Người nhận xét luận án: GS. TS. NGUYỄN CỬU KHOA

Cơ quan công tác của người nhận xét: Viện khoa học Vật liệu ứng dụng - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Nhận xét bao gồm các nội dung sau đây:

- 1. Nêu ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án. Cách đặt vấn đề và giải quyết vấn đề đã hợp lý hay chưa.**

Nước hoạt hóa plasma (PAW) hoặc dung dịch hoạt hóa plasma (PALs) là nước hoặc các dung dịch được xử lý bằng plasma lạnh (CAP). Nhờ có sự chuyển giao năng lượng cũng như các hoạt chất của oxi và nitơ từ khối plasma, PAW có những đặc tính vật lý và hóa học đặc biệt và sẽ mở ra một lĩnh vực mới có tiềm năng khai thác và sử dụng cực kì sâu rộng. Chúng sẽ được sử dụng để diệt khuẩn trong các bệnh viện và các trang trại với tốc độ nhanh và hiệu quả cực cao mà không gây bất kì ảnh hưởng tiêu cực nào đến sức khỏe con người và môi trường. Đặc tính này cũng giúp PAW có thể ứng dụng rộng rãi trong các lĩnh vực như thực phẩm, nông nghiệp, và y sinh.

Đề tài luận án nghiên cứu về nước hoạt hóa plasma ứng dụng cho lĩnh vực cây trồng, góp phần cải thiện chất lượng, làm tăng tỷ lệ nảy mầm của hạt giống và tăng trưởng trong giai đoạn sớm cho cây trồng nói chung và đặc biệt là cho đối tượng xà lách xoăn. Cụ thể, đề tài nghiên cứu khảo sát tác động của việc bổ sung hoạt chất N, P, K và sự kết hợp của chúng với nước hoạt hóa plasma cho quá trình nảy mầm và tăng trưởng trong giai đoạn đầu của xà lách xoăn với các nội dung chính sau:

Nội dung 1: Nghiên cứu thành phần, tính chất của quá trình tạo nước hoạt hóa plasma theo 2 cách: Plasma DPD và plasma Corona.

Nội dung 2: Khảo sát ảnh hưởng của các hoạt chất H_2O_2 , N, P, K trong đối với quá trình nảy mầm và tăng trưởng ban đầu của xà lách xoăn

Nội dung 3: Khảo sát ảnh hưởng của PAW đối với quá trình nảy mầm và tăng trưởng ban đầu của xà lách xoăn.

Nội dung 4: Khảo sát ảnh hưởng của PAW kết hợp với các hoạt chất N, P, K đối với quá trình nảy mầm và tăng trưởng ban đầu của xà lách xoăn.

Kết quả của đề tài cũng sẽ là cơ sở khoa học cho những nghiên cứu áp dụng tiếp theo nhằm tăng khả năng phát triển cho những cây rau màu ngắn ngày hay những cây trồng lâu năm.

Vì thế đề tài có ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn cao.

2. Sự hợp lý và độ tin cậy của phương pháp nghiên cứu.

Cách đặt vấn đề về nghiên cứu thành phần, tính chất của quá trình tạo nước hoạt hóa plasma theo 2 cách: Plasma DPD và plasma Corona được thực hiện trong các hệ thống: (a) Hệ thống phóng điện pha khí – lỏng; (b) Hệ thống phóng điện trực tiếp trong pha lỏng và (c) Hệ thống xả khí trong chất lỏng. Đó là quá trình tạo nước hoạt hóa thường quy đã được nhiều nghiên cứu sử dụng.

Nội dung khảo sát ảnh hưởng của hệ các hoạt chất H_2O_2 , N, P, K; nước hoạt hóa plasma và hệ nước hoạt hóa plasma, N, P, K trong quá trình nảy mầm và tăng trưởng ban đầu của xà lách xoăn được thực hiện trên cơ sở các thông số đánh giá: Chiều dài phôi, trọng lượng nghìn hạt, chiều cao thân, chiều dài rễ, diện tích lá, nồng độ diệp lục tố.

Thông số của hệ phát plasma được đo đạc bằng các thiết bị hóa lý hiện đại, có độ chính xác và có độ tin cậy cao. Các mẫu dung dịch tạo ra bởi hệ thống cũng đã được xác định các tính chất lý hóa bao gồm: Giá trị pH, độ dẫn điện, nồng độ ion NO_2^- , NO_3^- , nồng độ H_2O_2 , nồng độ O_3 .

Do đó phương pháp nghiên cứu đề tài luận án hợp lý, khoa học và có độ tin cậy cao.

3. Đánh giá các kết quả đạt được, nêu những đóng góp mới và giá trị của các đóng góp đó.

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 tăng trưởng và phát triển trong giai đoạn đầu của thực vật.

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 đa lượng N,P,K cho quá trình nảy mầm và phát triển giai đoạn đầu.

Luận án đã nghiên cứu kết hợp nước hoạt hóa plasma với các nguyên tố đa lượng vô cơ như N, P, K nhằm chỉ ra các thông số tốt nhất, cải thiện quá trình nảy mầm và tăng trưởng hạt *Lactuca sativa* L.

Luận văn cũng kết hợp nghiên cứu các yếu tố hỗn hợp lý, hóa, sinh để hệ thống và hoàn thiện hệ tạo plasma, nhằm nâng cao ảnh hưởng của nước hoạt hóa plasma đối với cây trồng.

4. Các kết luận của luận án có phù hợp với cách đặt vấn đề ở đầu luận án và có đủ sức thuyết phục hay không? Những ưu điểm và thiếu sót, những điểm cần được bổ sung và sửa chữa?

Các kết luận của luận án phù hợp và đầy đủ với cách đặt vấn đề, mục tiêu đề ra ở đầu luận án và có đủ sức thuyết phục.

Ưu điểm:

- Mục tiêu của đề tài luận án rõ ràng. Các nội dung nghiên cứu chính phù hợp với mục tiêu. Các phương pháp nghiên cứu khoa học, có độ tin cậy cao.

- Cấu trúc luận án hợp lý.

- Các kết quả nghiên cứu được trình bày, giải thích, biện luận rõ ràng, khoa học.

Những ưu điểm và thiếu sót:

- Nghiên cứu sinh đã chỉnh sửa đầy đủ các góp ý của Hội đồng Cơ sở, tuy nhiên vẫn còn một vài lỗi chính tả.

5. Đánh giá về sự trùng lặp của luận án so với các đồ án, luận văn, luận án hay công trình khoa học đã công bố trong và ngoài nước? Cần khẳng định luận án có trùng lặp hay không trùng lặp? Nếu trùng lặp, đề nghị ghi rõ tên, nhà xuất bản, năm xuất bản của tài liệu đã công bố.

Đề tài nghiên cứu về nước hoạt hóa plasma cho lĩnh vực cây trồng là hướng đi khá mới, chưa có nghiên cứu tại Việt Nam về vấn đề này ngoại trừ các công bố của tác giả.

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 hoặc riêng lẻ trên các điều kiện khác biệt so với nghiên cứu của luận án này. 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.

Do vậy chưa có sự trùng lặp của luận án so với các công bố trong và ngoài nước khác.

6. **Nhận xét về chất lượng những bài báo khoa học đã được nghiên cứu sinh công bố, khẳng định sự phù hợp về nội dung của chúng với nội dung luận án. Nhận xét về vị thế khoa học của các diễn đàn, nơi các bài báo được công bố có đáp ứng yêu cầu đối với luận án tiến sĩ?**

Qua nghiên cứu luận án, đã có 3 bài báo khoa học được công bố, bao gồm: 01 bài tạp chí quốc tế thuộc danh mục ISI, (IF = 3,148), chuyên về các nghiên cứu plasma và plasma hóa học; 01 bài của Tạp chí thuộc danh mục xét chức danh Giáo sư nhà nước, là tạp chí chuyên ngành Bảo vệ thực vật; 01 bài có mã số xuất bản ISBN: 978-604-60-3373-8, là Hội nghị uy tín chuyên về Bệnh hại thực vật thuộc “Hội nghiên cứu bệnh hại thực vật Việt Nam”

Như vậy nơi các bài báo được công bố đã vượt yêu cầu đối với luận án tiến sĩ

7. **Tính trung thực trong việc trích dẫn các công trình đã được nghiên cứu sinh công bố trong và ngoài nước, tài liệu tham khảo.**

Các trích dẫn trong nghiên cứu được trình bày rõ ràng, chính xác theo yêu cầu đặt ra.

8. **Kết luận:**

Luận án đã đáp ứng đầy đủ yêu cầu về nội dung và hình thức đối với một luận án Tiến sĩ để được bảo vệ tại Hội đồng cấp Học Viện

Đồng ý cho NCS được bảo vệ tại Hội đồng cấp Học Viện

TP.HCM, ngày 04 tháng 07 năm 2023

Người nhận xét

(ký và ghi rõ họ tên)



GS. TS. NGUYỄN CỬU KHOA

BẢN NHẬN XÉT/ PHẢN BIỆN LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Người nhận xét/ Người phản biện: Lê Thị Phương

Học hàm, học vị: Tiến sĩ

Cơ quan công tác: Viện Khoa học vật liệu ứng dụng

Họ và tên nghiên cứu sinh: Thân Quốc An Hạ

Tên đề tài: 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.*)

Chuyên ngành: Hóa vô cơ Mã số: 9 44 01 13

Ý KIẾN NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án.

Luận án nghiên cứu phương pháp mới kết hợp công nghệ plasma và các yếu tố khoáng đa lượng cần thiết (N, P, K) để cải thiện quá trình nảy mầm, sinh trưởng của cây trồng, cụ thể là cây xà lách xoăn; từ đó góp phần nâng cao năng suất cây trồng so với các phương pháp truyền thống hiện nay (ví dụ như phân bón, thuốc bảo vệ thực vật, công tác thủy lợi,...). Tại Việt Nam, đất nước có nền nông nghiệp là chính thì luận án thể hiện được tính cấp thiết và thực tiễn rất cao. Bên cạnh đó, việc sử dụng công nghệ mới - công nghệ plasma lạnh, cũng là một hướng nghiên cứu mới và có ý nghĩa khoa học trong việc ứng dụng khoa học công nghệ trong sản xuất nông nghiệp.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.

Luận án có tính mới, không trùng lặp với các công trình nghiên cứu đã công bố ở trong và ngoài nước. Các tài liệu tham khảo cũng được tác giả trích dẫn rõ ràng, đầy đủ

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

Các nội dung nghiên cứu phù hợp với tên đề tài luận án, cũng như chuyên ngành và mã số chuyên ngành

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

Luận án sử dụng các phương pháp nghiên cứu có độ chính xác và tin cậy cao, do đó các kết quả thu được có khả năng lý giải được các câu hỏi đặt ra trong mục tiêu của luận án

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

Luận án có những đóng góp mới cho sự ứng dụng của khoa học công nghệ trong sản xuất nông nghiệp thực tiễn như sau:

- Xây dựng thành công và xác định các yếu tố đặc trưng cho 2 hệ thống tạo nước hoạt hóa plasma (PAW) từ 2 kiểu phóng điện khác nhau

- Xác định thành phần, tính chất của 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

- Khảo sát vai trò và ảnh hưởng của hàm lượng H_2O_2 lên quá trình nảy mầm, sinh trưởng cũng như kháng khuẩn, kháng nấm trên cây trồng

- Khảo sát vai trò và ảnh hưởng của hàm lượng H_2O_2 lên quá trình nảy mầm, sinh trưởng cũng như kháng khuẩn, kháng nấm trên cây trồng

- Khảo sát vai trò và ảnh hưởng của hàm lượng các khoáng chất N, P, K đến quá trình nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn đầu của xà lách xoăn

- Khảo sát ảnh hưởng của PAW khi có và không kết hợp với các khoáng chất vô cơ N, P, K cho sự nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn đầu của xà lách xoăn.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

Luận án được trình bày rõ ràng, chín chu, bố cục chặt chẽ, văn phong mạch lạc. Tuy nhiên, có một vài điểm cần lưu ý chỉnh sửa để hoàn thiện hơn về mặt nội dung và hình thức như sau:

- Tên bảng 3.2 và 3.3 (danh mục các bảng biểu) bị trùng lặp

- Nêu cụ thể hơn mục tiêu của luận án (bao gồm mục tiêu tổng quát và mục tiêu cụ thể). Hiện nay tác giả đang để mục tiêu và đề tài dự án như nhau

- Tách phần đánh giá hoạt tính kháng khuẩn thành một nội dung riêng (phần nội dung nghiên cứu)

- Cấu trúc lại phần tổng quan cho phù hợp với câu chuyện, lý do lựa chọn đề tài: giới thiệu về xà lách → vai trò của các chất oxy hóa và khoáng đa lượng → ứng dụng của công nghệ plasma trong sản xuất nông nghiệp....

- Bổ sung thêm thông tin về các ký hiệu cho ý nghĩa phân tích thống kê trong các hình vẽ (ví dụ như ký hiệu *, #, @, & trong hình 3.16; 3.18,...)

- Ảnh hưởng của H_2O_2 đối với quá trình nảy mầm và sinh trưởng: các kết quả cho tỉ lệ nảy mầm, chiều dài rễ, hàm lượng diệp lục,... đều cho thấy tại hàm lượng $H_2O_2 > 10$ ppm sẽ gây ra các ảnh hưởng bất lợi. Tại sao tác giả vẫn tiếp tục khảo sát tại các nồng độ 30, 40, và 50 ppm, thay vì khảo sát thêm các nồng độ < 10 ppm để khẳng định điều kiện hàm lượng tối ưu là 10 ppm?

7. Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỳ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình đã công bố.

Các nội dung nghiên cứu của luận án đã được xuất bản trên tạp chí uy tín quốc tế (Plasma Chemistry and Plasma Processing, IF = 3.148) và các tạp chí, hội nghị khoa học uy tín trong nước

8. Kết luận chung cần khẳng định:

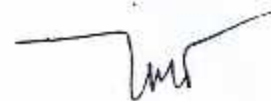
- Nội dung và các kết quả của luận án đáp ứng được yêu cầu của một luận án tiến sĩ chuyên ngành.

- Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án

- Luận án có thể được đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận học vị tiến sĩ

Tp. Hồ Chí Minh, ngày 05 tháng 07 năm 2023

Người nhận xét



Lê Thị Phương

BẢN NHẬN XÉT/ PHẢN BIỆN LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Người nhận xét/ Người phản biện: Bạch Long Giang
Học hàm, học vị: PGS.TS
Cơ quan công tác: Trường ĐH Nguyễn Tất Thành

Họ và tên nghiên cứu sinh: Thân Quốc An Hạ
Tên đề tài: **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.)**
Chuyên ngành: Hoá vô cơ
Mã số: 9440113

Ý KIẾN NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án.

Năng suất cây trồng là một trong những vấn đề quan trọng nhất của nền nông nghiệp. Để nâng cao năng suất cây trồng, các giải pháp tăng tỉ lệ nảy mầm và khả năng sinh trưởng trong quá trình trồng trọt nên được đặc biệt quan tâm. Nước hoạt hoá plasma (PAW) là một trong những công nghệ plasma được chú ý vì sự tương tác hỗ trợ nảy mầm và sinh trưởng của cây trồng. Tuy nhiên, những nghiên cứu trước đây còn rời rạc, chưa đánh giá tác động của quá trình điều chế plasma và các thông số hoá lý đi kèm. Ngoài ra, việc kết hợp PAW với các khoáng chất thiết yếu nitrogen (N), phosphorus (P) và potassium (K) trong giai đoạn đầu của nảy mầm – sinh trưởng của cây trồng vẫn chưa được nghiên cứu.

Luận án “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.)” hướng đến 3 mục tiêu:

- Nghiên cứu thành phần, nồng độ và tính chất của hai kiểu phóng của PAW.
- Khảo sát ảnh hưởng của H_2O_2 và các khoáng chất N, P, K đối với quá trình nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn đầu của xà lách xoăn.
- Khảo sát ảnh hưởng của PAW và PAW kết hợp với khoáng chất N, P, K trong giai đoạn đầu của quá trình nảy mầm và sinh trưởng của xà lách xoăn

Việc nghiên cứu hoàn thiện các vấn đề trên là có ý nghĩa cấp thiết để đạt được mục tiêu hoàn thiện và áp dụng công nghệ plasma lạnh vào nền nông nghiệp Việt Nam. Kết quả của luận án sẽ góp phần khẳng định vai trò và khả năng sử dụng PAW trong nông

nghiệp và công nghiệp, góp phần đáng kể trong việc bảo vệ an toàn cho cây trồng, vật nuôi, con người và môi trường, làm cơ sở cho các nghiên cứu và sáng chế trong cải tạo giống cây trồng, đánh giá tác động của PAW và các yếu tố liên quan trên cây trồng.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.

Đề tài luận án "**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.)**" với các số liệu, các kết quả nghiên cứu, các nhận xét, kết luận đã cung cấp trong báo cáo luận án cho thấy không có trùng lặp với các luận án đã bảo vệ trong nước và ngoài nước.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

Tên đề tài của luận án "**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.)**" và các nội dung thực hiện trình bày trong luận án có sự tương thích phù hợp với nhau.

Nội dung các công việc thực hiện trong luận án phù hợp với chuyên ngành và mã số chuyên ngành (chuyên ngành Hóa vô cơ, mã số chuyên ngành: 9440113).

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

Luận án sử dụng các phương pháp và thiết bị hiện đại để xây dựng hệ phát plasma, và để khảo sát các đặc trưng hoá lí, khảo sát các thông số cũng như kết hợp dung dịch hoạt hóa plasma được tạo ra với các hàm lượng hydrogen peroxide và khoáng N, P, K khác nhau. Các phương pháp có độ tin cậy cao, sử dụng và phát triển dựa trên các nghiên cứu trước đây.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

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.

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 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. 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 án 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.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

Nhận xét chung: Tác giả kiểm tra và chỉnh sửa các lỗi font chữ, lỗi chính tả về tên chất hoá học, tên khoa học, tên viết tắt, tên đơn vị trong bài viết và biểu đồ. Đồng thời, tác giả thống nhất cách viết số thập phân sử dụng dấu “,”. Theo quy ước quốc tế, tác giả chỉnh sửa đơn vị nhiệt độ là °C, không phải 0C.

Trang i. Tác giả gộp phần Mục lục với trang x

CHƯƠNG I

Trang 5. Hình 1.2. phần chú thích trong ngoặc đơn, tác giả thay “Từ trái sang:” thành (A), (B), (C) và (D) tương ứng lần lượt với các hệ thống.

Trang 32. Phần 1.4.3. tác giả bổ sung hình ảnh biểu hiện bệnh trên xà lách xoăn do *Fusarium* spp. vào hình 1.8 để minh họa cho phần mô tả. Như vậy, chú thích hình 1.8 được chỉnh sửa thành Biểu hiện bệnh trên xà lách xoăn do (A) *Fusarium* spp. và (B) *Xanthomonas* spp. Tác giả bổ sung tài liệu tham khảo cho hình ảnh này.

CHƯƠNG 2.

Trang 33. Phần 2.1.1.

Bảng 2.1. tác giả chia thông tin trong bảng thành 5 cột gồm: STT, Tên hoá chất, Công thức hoá học, Hãng cung cấp (nêu cụ thể quốc gia sản xuất) và Độ tinh khiết

Về nguyên liệu hạt xà lách xoăn:

Tên khoa học đã được nhắc đến ở CHƯƠNG I. TỔNG QUAN phần 1.4, tác giả nên sử dụng tên viết tắt (*L. sativa* L.)

Tác giả cần bổ sung những thông tin sau về các hạt được chọn làm nguyên liệu cho thí nghiệm:

- Số lượng (? kg)
- Tình trạng chất lượng (khoẻ mạnh, không mối mọt, không sâu bệnh?)
- Đặc điểm (kích thước / đường kính hạt, màu sắc, độ ẩm ?%)
- Giống địa phương hay giống nhập?
- Trước khi bảo quản, hạt sau thu hoạch có được tiền xử lí bằng cách rửa hoặc phơi khô không? Trong điều kiện như thế nào?
- Với điều kiện bảo quản ở nhiệt độ phòng, làm thế nào để đảm bảo chất lượng hạt không bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ và độ ẩm trong không khí?

Phần 2.1.2. thiết bị số 2 (HI-99130) được sử dụng đo pH và độ dẫn điện trong phần 2.3.3, không đo nhiệt độ. Tác giả kiểm tra và bổ sung (nếu có).

Trang 35 thứ tự a, b, c, d, e, f của các hình ảnh chưa đúng.

Trang 40 phần 2.5 đoạn thông tin “Hạt xà lách xoắn ... tiến hành thí nghiệm” đã trình bày trong phần 2.1.1.

Trang 45. Phần 2.8

Trước khi thực hiện phương pháp MIC và đo đường kính kháng khuẩn, nấm, tác giả có thể bổ sung thêm về thông tin nuôi cấy vi sinh (Culture of Microorganisms) trong đó trình bày:

- Nguồn cung cấp (American Type Culture Collection?)
- Strain number của vi khuẩn *Xanthomonas* spp. và nấm *Fusarium* spp.?
- Điều kiện nuôi cấy (Môi trường? Nhiệt độ? Cổ định hay lắc ? rpm? Thời gian nuôi cấy)
- Mật độ (optical density) là bao nhiêu ở 600 nm?
- Môi trường nuôi cấy nấm được chuẩn bị như thế nào?
- Điều kiện ủ (Nhiệt độ? Thời gian? Cổ định hay lắc ? rpm)
- Nồng độ khuẩn, nấm pha loãng là bao nhiêu CFU/mL

Dung dịch nấm và dung dịch vi khuẩn đã được nuôi cấy đến mật độ ? CFU/mL trước khi tiến hành các phương pháp đo?

Mẫu đối chứng trong các phép đo là gì?

Tác giả bổ sung thông tin về đối tượng của các phép đo là các mẫu được xử lý với PAW trong thời gian từ 5 đến 30 phút.

Trang 46. Phần 2.9

“ $p \leq 0,05$ được lấy làm mức ý nghĩa thống kê”. Như vậy, tác giả nên bổ sung giải thích về ký hiệu “*” có nghĩa là “* $p \leq 0,05$ ”, đồng thời thêm * $p \leq 0,05$ vào phần chú thích biểu đồ hợp lý.

CHƯƠNG 3.

Tác giả loại bỏ phần “Biểu đồ biểu diễn” và “Đồ thị biểu diễn” trong tên của toàn bộ các hình

Tác giả kiểm tra số thứ tự của hình ảnh phải tương ứng với nội dung trong phần bài viết

Về mức độ tăng giảm của số liệu trong luận án, tác giả thay thế các từ “mạnh” và “nhẹ” bằng “đáng kể”/không đáng kể”, “rõ ràng”/không rõ ràng”, “nhiều/ít” để nêu sự khác biệt có ý nghĩa thống kê hay không và minh họa bằng giá trị p value, tương tự cho phần 3.2 và 3.4.

Từ Hình 3.3. đến Hình 3.13, tác giả chỉnh sửa tên khí N₂, O₂ thành N₂, O₂

Trang 57 Bảng 3.1 tác giả loại bỏ “Bảng giá trị” trong tên bảng. Đồng thời, điều chỉnh O₂ thành O₂. Thêm vào đó, dấu “*” đã được dùng để thể hiện ý nghĩa thống kê. Do vậy, để tránh trùng lặp, tác giả nên thay đổi dấu “*” và “**” trong bảng lần lượt thành “C” và “DBD” tương ứng với kiểu phóng Corona và DBD

Trang 59 Hình 3.14 tác giả sửa đơn vị Trọng lượng nghìn hạt trong hình thành (g)

Phần 3.4.1.1. tác giả thêm chi tiết nêu rõ H_2O_2 ở các hàm lượng khác nhau là (0 – 50 ppm)

Trang 65 phần 3.4.1.3.

“*Xanthomonas* spp ở 10^6 ”. Tác giả giải thích số “ 10^6 ” là gì và đơn vị? Nếu đây là mật độ vi khuẩn phát triển trong dung dịch vi khuẩn thí nghiệm thì mật độ nấm phát triển trong dung dịch nấm thí nghiệm là bao nhiêu? Tác giả cũng bổ sung chi tiết này vào phần 2.8.

Trang 66 Hình 3.23 hình ảnh là kết quả kháng nấm ở hàm lượng H_2O_2 là bao nhiêu? Phần chú thích ghi là các hàm lượng 50 ppm, 200 ppm và 1000 ppm, tác giả bổ sung chú thích của các hàm lượng này.

Trang 67-68, Hình 3.25 đến 3.27, tác giả chú thích trực tiếp các hàm lượng trực tiếp trên hình ảnh tương ứng.

Trang 68, Hình 3.28, tác giả bổ sung scale bar trên hình, chỉnh sửa chú thích thành (A) 0 giờ, (B) 8 giờ và (C) 24 giờ và ghi chú hình ảnh tương đương. Phần giải thích bằng chữ “Hình ảnh bên dưới... hàm lượng 50 ppm” trái ngược với chú thích hình (80 ppm P). Tác giả kiểm tra và điều chỉnh.

Trang 70: Hình 3.23 là hình ảnh kháng nấm của các hàm lượng H_2O_2 , không thể hiện tỉ lệ này mầm trong trường hợp bổ sung P và K. Tác giả nên kiểm tra và điều chỉnh.

Hình 3.28 thể hiện sự biến đổi của hạt theo hàm lượng P 80 ppm. Tuy nhiên, trong phần trường hợp bổ sung K trang 70 đề cập rằng tỉ lệ này mầm có xu hướng tăng dần như N và P. Tác giả nên bổ sung dữ liệu/ hình ảnh minh họa kết luận này?

Trang 72 – 74 (Hình 3.31, 3.32 và 3.33) và trang 92 (Hình 3.51, 3.52 và 3.53): Số liệu trên thước kẻ khá mờ. Tác giả thay bằng scale bar với số và đơn vị rõ hơn. Đồng thời, tác giả kiểm tra và chỉnh sửa nội dung trong bài viết tương ứng với số thứ tự hình ảnh. Đồng thời, tác giả ghi rõ Ctrl và PN0, PP0 và PK0 khác nhau như thế nào (các hình ở trang 92)

Trang 71 đến 73 phần 3.4.2.2. tác giả so sánh (1) mức N trong các nghiên cứu trước đây, (2) mức P trong nghiên cứu [138] và (3) mức K trong nghiên cứu số [142] và [143] là cao hay thấp hơn so với nghiên cứu hiện tại? Đồng thời, tác giả bổ sung thông tin về tiêu chuẩn (quốc tế hoặc tại Việt Nam) về mức N, P, K được cho là phù hợp với để thúc đẩy quá trình sinh trưởng giai đoạn đầu về chiều cao thân rễ, diện tích lá và hàm lượng diệp lục, cũng như tỉ lệ trọng lượng khô/tươi của xà lách xoăn (nếu có)

Trang 74 đến 76 tương tự, tác giả so sánh kết quả thu được về diện tích lá và hàm lượng diệp lục, tỉ lệ trọng lượng khô/tươi trong nghiên cứu hiện tại với các nghiên cứu trước đây.

Trang 81, Hình 3.42, tác giả chú thích trực tiếp các hàm lượng trực tiếp trên hình ảnh tương ứng

Trang 83, Hình 3.43 và Trang 85 Hình 3.45: Tác giả nên bổ sung các ký hiệu vào phần chú thích biểu đồ hợp lý.

Trang 94, Hình 3.54, chỉnh sửa tên đơn vị diện tích lá trên hình (mm^2). Tác giả giải thích ý nghĩa mũi tên màu xanh trong hình?

Trang 95 Các kết luận về mức độ tăng giảm so với đối chứng, “tăng nhẹ”, “giảm nhẹ”, “thay đổi nhẹ” có được xác nhận bằng giá trị p value được nhắc đến trong phần 2.9 không? Nếu có, tác giả bổ sung chi tiết này vào cuối mỗi kết luận để đảm bảo độ tin cậy của các kết luận. Đồng thời chỉnh sửa các số thập phân.

Trang 96, Hình 3.56, tương tự, tác giả giải thích ý nghĩa mũi tên màu xanh trong hình?

Trang 97 trong phần chú thích của các hình 3.57 đến 3.59 tác giả nêu rõ PAW đã sử dụng trong thí nghiệm này là PAW-15, tương ứng với phần viết ở trang 96

Phần 3.5.4.1. thay tên đầy đủ “plasma lạnh” bằng tên viết tắt PAW để thống nhất với các phần trước

Phần Kết luận và Kiến nghị

Tác giả bổ sung kết luận về hiệu quả kháng khuẩn và kháng nấm của PAW-15 nói riêng và PAW nói chung đã thu được từ nghiên cứu này.

7. Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỳ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình đã công bố.

Từ kết quả nghiên cứu của luận án, tác giả và nhóm nghiên cứu đã công bố thành công 03 bài báo đăng trên các tạp chí khoa học có uy tín quốc tế, trong nước trong cộng đồng khoa học và có nội dung công bố phù hợp, có liên quan đến hướng nghiên cứu của luận án của tác giả. Các bài báo khoa học của tác giả được phân biệt chặt chẽ thể hiện ở thời gian nộp bài (Received) và thời gian công bố (Published).

Bài 1. Tên bài báo: Non-thermal Plasma Activated Water for Increasing Germination and Plant Growth of *Lactuca sativa* L.

Thời gian xuất bản: 2022

Tên tạp chí: Plasma Chemistry and Plasma Processing (tạp chí SCI, IF = 3,148).

Bài 2. Tên bài báo: Ảnh hưởng của nồng độ H_2O_2 đến quá trình nảy mầm hạt xà lách xoăn (*Lactuca sativa* var. capitata L.)

Thời gian xuất bản: 2021

Tên tạp chí: Journal of Plant Protection (ISSN 2354-0710) (Bài báo nằm trong Danh mục tạp chí khoa học được tính điểm của Hội đồng Giáo sư ngành, liên ngành Nhà nước).

Bài 3. Tên bài báo: Khảo sát hoạt tính kháng *Xanthomonas* spp. và *Fusarium* spp. của dung dịch tạo bởi plasma nguội trong điều kiện in vitro

Thời gian xuất bản: 2021

Tên tạp chí: The 20th National Conference of Phytopathological Society of Vietnam V.P.S. (ISBN: 978-604-60-3373-8). (Bài báo Hội nghị nằm trong Danh mục Hội nghị khoa học được tính điểm của Hội đồng Giáo sư ngành, liên ngành Nhà nước).

8. Kết luận chung cần khẳng định:

- Mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành.
 - Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án hay không;
 - Luận án có thể đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận học vị tiến sĩ được hay không.
- Luận án đã trình bày đầy đủ yêu cầu về nội dung nghiên cứu, hình thức đối với một luận án Tiến sĩ và kết quả nghiên cứu đóng góp cho lĩnh vực Hóa vô cơ.
- Bản tóm tắt phản ánh trung thực nội dung cơ bản của luận án.
- Luận án có thể đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ.

Tp. Hồ Chí Minh, ngày 04 tháng 07 năm 2023

Người nhận xét



PGS.TS. Bạch Long Giang

BẢN NHẬN XÉT/ PHẢN BIỆN LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Người phản biện: Nguyễn Thị Kim Phượng
Học hàm, học vị: PGS. TS
Cơ quan công tác: Viện Khoa học Vật liệu Ứng dụng
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Họ và tên nghiên cứu sinh: Thân Quốc An Hạ

Tên đề tài: **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 (*Lactucas sativa* L)**

Chuyên ngành: Hóa vô cơ
Mã số: 9 44 01 13

Ý KIẾN NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án.

Năng suất cây trồng giữ vai trò rất quan trọng trong sản xuất nông nghiệp. Năng suất cây trồng phụ thuộc vào nhiều yếu tố: chất lượng giống ban đầu, bón phân, thuốc bảo vệ thực vật... Một số biện pháp đã được áp dụng nhằm nâng cao năng suất cây trồng như cải tạo giống, tìm kiếm các giải pháp để tăng tỷ lệ nảy mầm của hạt và tăng khả năng sinh trưởng và phát triển của cây trong suốt quá trình trồng trọt. Một số biện pháp (tăng cường sử dụng bón phân và thuốc bảo vệ thực vật và chú trọng việc tưới tiêu) đã được áp dụng để cải thiện năng suất cây trồng trong sản xuất nông nghiệp truyền thống. Tuy nhiên, những hạn chế của các biện pháp này là tồn dư thuốc bảo vệ thực vật và phân bón trên sản phẩm khi thu hoạch, tăng chi phí thực tế và gây ô nhiễm môi trường.

Áp dụng các công nghệ mới để cải thiện năng suất cây trồng nhưng không tác hại đến sức khỏe con người là một bước tiến quan trọng trong sản xuất nông nghiệp. Ngày nay, các kỹ thuật vật lý như chiếu xạ, tia ultraviolet (UV), plasma ... đã thu hút sự quan tâm nghiên cứu của cộng đồng khoa học nhằm tăng tỷ lệ nảy mầm của hạt, sinh trưởng và phát triển của cây. Vì vậy, đề tài "**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 (*Lactucas sativa* L)**" có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.

- Nội dung của luận án không trùng lặp với các công trình đã công bố trước đây.
- Kết quả nghiên cứu của luận án trung thực và rõ ràng.
- Trích dẫn tài liệu tham khảo đầy đủ và trung thực.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

- Tên đề tài, nội dung luận án và mã số chuyên ngành hoàn toàn phù hợp với chuyên ngành hóa vô cơ.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

- Xác định các đặc trưng của mẫu nước đã hoạt hóa plasma bằng cách đo các giá trị pH, độ dẫn điện, nồng độ ion NO_2^- , NO_3^- , H_2O_2 và O_3 hòa tan là phù hợp và đáng tin cậy.

-Đánh giá quá trình nảy mầm của hạt giống bằng phương pháp nghìn hạt, đánh giá chiều dài phôi qua kính hiển vi soi nổi và tỷ lệ nảy mầm là phù hợp và đáng tin cậy.

-Đánh giá quá trình sinh trưởng của cây bằng cách đo chiều dài thân, rễ, hàm lượng diệp lục, diện tích lá, tỷ lệ nước có trong thực vật là phù hợp.

-Phương pháp đánh giá hiệu quả kháng khuẩn, kháng nấm, xác định nồng độ ức chế tối thiểu của các mẫu dung dịch hoạt hóa plasma là hiện đại và đáng tin cậy.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

- Luận án đã nghiên cứu, đánh giá, so sánh và lựa chọn các thông số của nước hoạt hóa plasma phù hợp với mục tiêu cải thiện quá trình sinh trưởng và phát triển trong giai đoạn đầu của xà lách xoăn. Đánh giá các yếu tố tác động để hoàn thiện cơ chế tác động của nước hoạt hóa plasma với cây trồng.

- Đánh giá sự cần thiết các vi lượng N, P, K cho quá trình nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn đầu của xà lách xoăn *Lactuca sativa* L.

- Đánh giá cơ chế tác động của nước hoạt hóa plasma kết hợp với đơn yếu tố và đa yếu tố đến cơ chế sinh lý thực vật, Đánh giá các yếu tố tác động để khẳng định vai trò và khả năng sử dụng nước hoạt hóa plasma trong nông nghiệp và công nghiệp.

- Kết quả của nghiên cứu là nền tảng cho các nghiên cứu tiếp theo về thuần hóa, cải tạo giống cây trồng ở khí hậu ôn đới sang khí hậu nhiệt đới khi sử dụng nước hoạt hóa plasma cho nảy mầm và tăng trưởng.

- Sự kết hợp nước hoạt hóa plasma với N, P, K đã cải thiện quá trình nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn đầu của *Lactuca sativa* L, đây là chia khóa cho các nghiên cứu về cải tạo giống cây trồng.

- Đã hoàn thiện hệ thống tạo plasma dựa trên sự kết hợp giữa nhiều yếu tố (lý, hóa, sinh) và cũng đã là sáng tỏ tác động của nước hoạt hóa plasma và ảnh hưởng của các yếu tố bên ngoài đối với cây trồng.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

Luận án có bố cục hợp lý, gồm 108 trang không kể tài liệu tham khảo và phụ lục, với 5 bảng và 75 hình. Bố cục luận án gồm:

- ⚡ Mở đầu (2 trang);
- ⚡ Chương 1: Tổng quan (30 trang);
- ⚡ Chương 2: Thực nghiệm (14 trang);
- ⚡ Chương 3: Kết quả và thảo luận (58 trang);
- ⚡ Kết luận, kiến nghị và đóng góp mới (4 trang).
- ⚡ Luận án có 181 tài liệu tham khảo (tiếng Anh và tiếng Việt).

- Hình thức: Luận án được trình bày mạch lạc, rõ ràng. Hình ảnh, bảng biểu minh họa trong luận án đẹp, dễ hiểu.

- Thiếu sót:

Còn nhiều lỗi đánh máy.

Rà soát lỗi ở các trang 35, 36, 44 (thứ tự hình)...., trang 58 lỗi dấu thập phân,...

Hình 1.5 phải chuyển sang tiếng Việt.

7. Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỳ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình đã công bố.

Nội dung của luận đã được công bố trong 01 công trình trên tạp chí ISI (*Plasma Chemistry and Plasma Processing*) 01 công trình công bố trên tạp chí SCOPUS (*Journal of Plant Protection*) và 01 công trình công bố trong hội thảo nên có thể đánh giá luận án có tính mới và giá trị khoa học cao.

8. Kết luận chung cần khẳng định:

Với khối lượng công việc khá lớn, với những kết quả đạt được có tính mới, tính khoa học và thực tiễn:

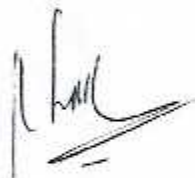
- Luận án “Nghiên cứu điều chế và khảo sát ảnh hưởng của dung dịch hoạt hóa plasma kết hợp khoáng đa lượng cho sự nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn đầu của xà lách xoăn (*Lactuca sativa* L)” đã đáp ứng đầy đủ các yêu cầu của 1 luận án tiến sĩ chuyên ngành hóa vô cơ;
- Quyển tóm tắt luận án phản ánh trung thực nội dung của luận án.
- Luận án có thể đưa ra bảo vệ trước hội đồng chấm luận án tiến sĩ cấp Học Viện để nhận học vị Tiến sĩ chuyên ngành.

Xác nhận của đơn vị

T.P. HCM, ngày 14. tháng 7. năm 2023

Người nhận xét

(Ký và ghi rõ họ tên)



PGS.TS. Nguyễn Thị Kim Phượng

BẢN NHẬN XÉT/ PHẢN BIỆN LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Người nhận xét: Phạm Trung Kiên

Học hàm, học vị: PGS. TS

Cơ quan công tác: Trường Đại học Bách Khoa, Đại học Quốc Gia TP HCM

Họ và tên nghiên cứu sinh: Thân Quốc An Hạ

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

Chuyên ngành: Hoá vô cơ Mã số: 9 44 01 13

Ý KIẾN NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án.

Đề tài nghiên cứu quá trình tạo nước hoạt hoá plasma (Plasma activated water PAW) có bổ sung các khoáng đa lượng. Nước hoạt hoá này được dùng để đánh giá quá trình nảy mầm và sinh trưởng trong giai đoạn đầu của xà lách xoăn (*Lactuca sativa L.*). Đề tài có tính cần thiết cho ngành nông nghiệp công nghệ cao, có tính thời sự (giảm phân bón hoá học), có ý nghĩa khoa học và thực tiễn. Nội dung nghiên cứu gồm 3 phần chính:

Nội dung 1: Nghiên cứu thành phần, nồng độ và tính chất của các mẫu nước hoạt hoá plasma trên hai kiểu phòng khác nhau: Trực tiếp (corona) và gián tiếp (Dielectric Barrier Discharge - DBD). Khảo sát giá trị pH, độ dẫn điện, nồng độ ion NO₂⁻, NO₃⁻, nồng độ H₂O₂, nồng độ O₃

Nội dung 2: Khảo sát ảnh hưởng của H₂O₂ (perioxide) 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.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.

Đây là hướng đi mới của nhóm nghiên cứu, không có sự trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước. Nhóm nghiên cứu trích dẫn đầy đủ phần tài liệu tham khảo (181TLTK với các trích dẫn từ 2021 về sau)

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

Tên đề tài phù hợp nội dung nghiên cứu. Nội dung nghiên cứu về PAW (hữu cơ) có bổ sung các nguyên tố vô cơ, ứng dụng chăm sóc cây xà lách xoăn (nông nghiệp) nên nội dung chưa hoàn toàn phù hợp với chuyên ngành vô cơ (mã số 9 44 01 13), nhưng có thể chấp nhận được. Nhóm nghiên cứu có thể bổ sung dữ liệu phân tích XRD, XRF mẫu lỏng PAW có bổ sung N, P, K hoặc dữ liệu XRD, XRF, SEM/EDS mẫu xà lách xoăn (đã có 1 phần ở hình 3.46 sau 2 giờ ngâm) sau khi được hấp phụ dung dịch PAW (lưu ý các nguyên tố NPK) để tăng dữ liệu hệ vô cơ.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

Các phương pháp sử dụng để nghiên cứu có độ tin cậy. Riêng phương pháp đánh giá quá trình sinh trưởng giai đoạn sớm cần chuẩn hoá cách đo như chiều cao thân và chiều dài rễ, tỉ lệ trọng lượng khô tươi

Đánh giá hàm lượng diệp lục, diện tích lá dùng máy công cụ đo cần mô tả công cụ.

Ảnh hình thái ngoài máy chụp hình Nikon, nên thêm dữ liệu SEM/EDX để tìm hiểu quá trình hấp phụ NPK trên mẫu.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

Kết quả nghiên cứu mới, việc chủ động sản xuất nước plasma có bổ sung NPK có thể đem lại giá trị gia tăng cho chuyên ngành. Có khả năng đóng góp phục vụ cho sản xuất phân bón hệ vô cơ, bằng cách dùng PAW trong phân bón lỏng.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

Bố cục viết rõ ràng, dễ đọc. Kết quả nhiều và phong phú.

7. Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình đã công bố.

Nội dung luận án được công bố ở 3 tạp chí, kỷ yếu chuyên ngành, cụ thể

1. Ha An Quoc Than, Thien Huu Pham, Duyen Ky Vo Nguyen, Thuong Hoai Pham, Ahmed Khacel. 2022, Non-thermal Plasma Activated Water for Increasing Germination and Plant Growth of Lactuca sativa L., Plasma Chemistry and Plasma Processing, 42, pages73–89. (tạp chí SCI, IF = 3.148).

2.Thân Quốc An Hạ, Nguyễn Võ Kỳ Duyên, Đinh Quốc Hòa, Nguyễn Thành Trung, Phạm Hoài Thương, Phạm Hữu Thiện, 2021, Ảnh hưởng của nồng độ H₂O₂ đến quá trình nảy mầm hạt xà lách xoăn (Lactuca sativa var. capitata L.), Journal of Plant Protection, 4, 297 (ISSN 2354-0710)

(Bài báo nằm trong Danh mục tạp chí khoa học được tính điểm của Hội đồng Giáo sư ngành, liên ngành Nhà nước).

3.Thân Quốc An Hạ, Đinh Quốc Hòa, Nguyễn Võ Kỳ Duyên, Phạm Hoài Thương, Phạm Hữu Thiện. 2021, Khảo sát hoạt tính kháng Xanthomonas spp. và Fusarium spp. của dung dịch tạo bởi plasma nguội trong điều kiện in vitro, The 20th National Conference of Phytopathological Society of Vietnam V.P.S., page 345-354

(ISBN: 978-604-60-3373-8).

(Bài báo Hội nghị nằm trong Danh mục Hội nghị khoa học được tính điểm của Hội đồng Giáo sư ngành, liên ngành Nhà nước).

Các công trình khoa học trong tạp chí có uy tín, được công nhận.

8. Kết luận chung cần khẳng định:

- Mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành: **ĐÁP ỨNG**
- Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án hay không: **ĐỦ ĐIỀU KIỆN**
- Luận án có thể đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận học vị tiến sĩ được hay không: **ĐỦ ĐIỀU KIỆN**

TPHCM, ngày 12 tháng 07 năm 2023

Người nhận xét

(Ký và ghi rõ họ tên)



Phạm Trung Kiên

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIÊN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Người nhận xét/ Người phản biện: TRẦN QUANG HIẾU

Học hàm, học vị: PGS.TS

Cơ quan công tác: TRƯỜNG ĐẠI HỌC CÔNG NGHỆ SÀI GÒN

Họ và tên nghiên cứu sinh: THÂN QUỐC AN HẠ

Tên đề tài: **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.*)**

Chuyên ngành: HÓA HỌC VÔ CƠ Mã số: 9440113

Ý KIẾN NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án.

Trong thời gian gần đây, việc ứng dụng các tiến bộ khoa học trong nông nghiệp đã được các nhà khoa học nghiên cứu để kích thích quá trình nảy mầm nhanh của hạt như sử dụng từ trường, xử lý siêu âm, xử lý ô-zôn, tia UV. Đặc biệt, công nghệ Plasma lạnh hay plasma nguội đã được quan tâm nghiên cứu rất nhiều. Trong số đó, nước được hoạt hóa plasma (Plasma activated water – PAW) có nhiều ưu điểm như thân thiện với môi trường, thời gian xử lý ngắn, tiết kiệm năng lượng, không gây hại cho hạt, thực vật cũng như sức khỏe con người. Chính vì thế mà trong những năm gần đây việc áp dụng PAW trong nông nghiệp, cụ thể là kích thích nảy mầm và sinh trưởng đang trở thành xu hướng nghiên cứu mới của các nhà khoa học trên thế giới. Mặt khác, hiệu quả kích thích nảy mầm và tăng trưởng sinh khối thực vật của PAW phụ thuộc vào thành phần và nồng độ các chất có trong PAW, vì thế việc nghiên cứu chế tạo PAW để ứng dụng trong tăng trưởng thực vật là một hướng nghiên cứu theo kịp xu hướng thế giới.

Xà lách xoăn (*Lactuca capitata*) loại rau ăn sống phổ biến, có giá trị kinh tế cao. Ngoài ra, loại thực vật này độ nhạy của hạt giống cao, tốc độ nảy mầm nhanh, sự tăng trưởng tuyến tính, không nhạy cảm với sự khác biệt pH trong phạm vi rộng.

Do đó, luận án “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.*)” có ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn.

Ý nghĩa khoa học của luận án là đã đóng góp được bộ số liệu mới, đầy đủ, tin cậy, và khoa học trong việc chế tạo hệ thống tạo Plasma và các thông số tối ưu ảnh hưởng đến quá trình nảy mầm và sinh trưởng của phôi.

Về ý nghĩa thực tiễn, kết quả nghiên cứu của có thể ứng dụng để phát triển vật liệu mới phục vụ cho sinh học và nông nghiệp trên thực tế.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.

Nghiên cứu ứng dụng Plasma trong nông nghiệp hiện ở Việt Nam vẫn còn ở dạng sơ khai. Do đó, luận án có nhiều điểm mới, không trùng lặp với các nghiên cứu trước đây trong nước và nước ngoài.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

Tên đề tài, nội dung đề tài và chuyên ngành cũng như mã số chuyên ngành phù hợp với quy định chung.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

Phương pháp nghiên cứu được xây dựng hợp lý, logic có sự tham khảo từ các công bố quốc tế uy tín. Bộ số liệu thu được dựa trên các thiết bị hiện đại. Do đó, số liệu thu được có độ tin cậy và chính xác cao.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

- 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.

Đây là một trong những nghiên cứu đầu tiên ở VN về ứng dụng Plasma vào trong nông nghiệp. Vì thế, các kết quả nghiên cứu ở luận án này là mới, có giá trị tham khảo cho cộng đồng các nhà khoa học trong và ngoài nước. Ngoài ra, luận án cũng mở ra nhiều hướng tiếp cận mới trong việc ứng dụng công nghệ Plasma vào vật liệu dùng trong sinh học thực vật cũng như nông nghiệp.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

Ưu điểm: luận án được trình bày sạch đẹp, bố cục gọn gàng, đầy đủ các nội dung, hình ảnh, biểu đồ sắc nét.

Nhược điểm:

-Nên bổ sung ý nghĩa khoa học, ý nghĩa thực tiễn của luận án

-Các cụm từ tiếng Anh trong các hình ảnh 1.4, và 1.5 nên được dịch sang tiếng Việt.

- Theo tôi thì nên bổ sung sơ đồ khối tổng hợp toàn bộ tên các thí nghiệm trong luận án.

- Bản tóm tắt luận án được trình bày khá đầy đủ nội dung luận án, tuy nhiên không nên chia phần kết luận thành chương trong bản tóm tắt.

7. Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình đã công bố.

Tác giả đã công bố được 3 công trình khoa học, trong đó cả 01 bài SCIE có IF cao, 01 bài trên tạp chí trong nước, 01 bài trong hội nghị khoa học quốc gia. Các bài báo này đều có hàm lượng khoa học cao, thể hiện được các nội dung liên quan đến luận án. Cụ thể như sau:

Bài số 1: Non-thermal Plasma Activated Water for Increasing Germination and Plant Growth of *Lactuca sativa* L.

Bài báo này đã nghiên cứu tác động của PAW đối với sự nảy mầm của hạt rau diếp (*Lactuca Sativa* L.) và sự phát triển của cây con. PAW đạt được bằng cách sử dụng sự phóng điện rào cản điện môi ở áp suất khí quyển trong hỗn hợp khí Ar (50%) –N₂ (40%) –O₂ (10%) trong khoảng thời gian xử lý từ 5 đến 30 phút. Các tính chất hóa lý của PAW (nhiệt độ, pH, độ dẫn điện, nồng độ nitrat, nitrit và hydro peroxide) đã được khảo sát. Kết quả cho thấy rằng nước được kích hoạt trong thời gian vừa phải, từ 10 đến 20 phút, chứa các loại oxy và nitơ phản ứng ở các mức nồng độ phù hợp để có tác động tích cực đến sự nảy mầm của hạt và sự phát triển của cây con. Khả năng nảy mầm tăng đáng kể khoảng 117%, 56% và 77%, trong 3 ngày đầu tiên, tương ứng, so với đối chứng. Đối với PAW thời gian dài (25–30 mn), tỷ lệ nảy mầm không đổi hoặc giảm. Hiệu quả tích cực của phương pháp xử lý PAW đã được ghi nhận trên các thông số tăng trưởng của cây con bao gồm chiều dài thân và rễ, trọng lượng lá, diện tích lá và hàm lượng chất diệp lục và sức sống của cây con. Công trình này được đăng trong tạp chí Plasma

Chemistry and Plasma Processing thuộc nhà xuất bản Springer, là một tạp chí uy tín trong lĩnh vực Plasma, có chỉ số IF = 3,337 (2021), H-index =72, Q2.

Bài số 2: Ảnh hưởng của nồng độ H_2O_2 đến quá trình nảy mầm của hạt xà lách xoăn (*Lactuca sativa* var *capitata*). Trong bài báo này, các tác giả đã khảo sát được sự ảnh hưởng của hydroperoxit được tạo ra từ quá trình hoạt hóa của nước bởi Plasma đến quá trình nảy mầm của hạt. Công trình này được đăng trong tạp chí Bảo vệ thực vật, thuộc danh mục được tính điểm của HDGS NN.

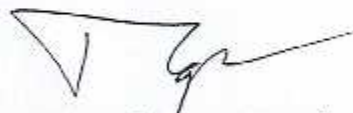
Bài số 3: Khảo sát hoạt tính kháng *Xanthomonas spp.* và *Furarium spp.* của dung dịch tạo bởi Plasma nguội trong điều kiện Invitro. Bài báo trình bày về khả năng kháng vi nấm của dung dịch PAW trong điều kiện ống nghiệm được đăng trong kỉ yếu của hội nghị "The 20th National Conference of Phytopathological Society of Vietnam". Hội nghị có phân biện độc lập và kỉ yếu nằm trong danh mục được tính điểm của HDGSNN.

8. Kết luận chung cần khẳng định:

Luận án này đã đáp ứng đầy đủ yêu cầu của một LATS chuyên ngành Hóa vô cơ. Bản tóm tắt luận án phản ánh được nội dung cơ bản của luận án. Tôi đồng ý cho nghiên cứu sinh được bảo vệ trước hội đồng chấm luận án cấp học viện để nhận học vị tiến sĩ.

Tp.HCM, ngày 02 tháng 07 năm 2023

Người nhận xét



PGS.TS. Trần Quang Hiếu

CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập – Tự do - Hạnh Phúc

BẢN NHẬN XÉT TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ

Đề tài luận án: “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.)”

Chuyên ngành: Hóa vô cơ

Mã số: 9.44.01.13

Nghiên cứu sinh: Trần Quốc An IIạ

Người hướng dẫn: PGS.TS Phạm Hữu Thiện; GS.TS Ahmed Khacef

Người nhận xét: TS. Cao Văn Dư

Cơ quan công tác: Trường Đại học Lạc Hồng

Nội dung nhận xét:

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án.

- **Tính cần thiết, thời sự:** Lĩnh vực nông nghiệp với những vấn đề đặt ra như: Nâng cao năng suất cây trồng, giảm dư lượng chất bảo vệ thực vật, ngăn ngừa các loại bệnh truyền nhiễm do vi sinh vật,... là định hướng nghiên cứu có giá trị.

- **Ý nghĩa Khoa học:** nghiên cứu có hệ thống công nghệ plasma nhằm đánh giá khả năng khả năng nảy mầm, kích thích sinh trưởng của cây giống là chủ đề nghiên cứu có ý nghĩa khoa học.

- **Ý nghĩa thực tiễn:** luận án định hướng áp dụng công nghệ mới với khả năng tăng kích thước sinh trưởng trên đối tượng xà lách xoăn đồng thời đặt cơ sở cho nhiều nghiên cứu mới thực tiễn có khả năng áp dụng trên nhiều đối tượng khác thuộc nông nghiệp, nông dược,...

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo

Luận án thể hiện tính mới, kết quả nội dung chính của luận án không trùng lặp với các công trình, luận án đã công bố trong và ngoài nước. 181 Tài liệu tham khảo được trích dẫn rõ ràng và đầy đủ.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành

Luận án với 03 nội dung chính: (1) Nghiên cứu thành phần, nồng độ và tính chất của các mẫu nước hoạt hóa plasma trên hai kiểu phóng trực tiếp và gián tiếp; (2) Khảo sát ảnh hưởng của H_2O_2 và các khoáng chất N, P, K đối với quá trình nảy mầm và sinh trưởng giai đoạn đầu của xà lách xoăn. ; (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.

⇒ Các nội dung này hoàn toàn phù hợp với mục tiêu, tên của luận án cũng như mã số và chuyên ngành Hóa vô cơ.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu

Luận án sử dụng các kỹ thuật đánh giá phù hợp với các nội dung nghiên cứu như: đo đặc trưng điện của hệ phát, các đặc trưng hóa lý của dung dịch hoạt hóa, thông số cho quá trình nảy mầm và sinh trưởng của đối tượng xà lách xoăn,...

Các phương pháp nghiên cứu độ tin cậy, phù hợp và đáp ứng giải quyết mục tiêu, các nội dung của luận án.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả

Luận án có những nội dung thể hiện tính mới như: Nghiên cứu có hệ thống tác động của dung dịch hoạt hóa plasmon đến quá trình sinh trưởng và phát triển của xà lách xoăn. Đặc biệt ở nội dung phân tích đánh giá tác động của dung dịch hoạt hóa, dung dịch hoạt hóa kết hợp khoáng đa lượng,...

6. Ưu và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án

- **Ưu điểm:** Luận án trình bày chặt chẽ, logic; các vấn đề nêu ra cho đến cách giải quyết vấn đề hợp lý; Phương pháp nghiên cứu, đánh giá có tính chính xác, độ tin cậy; Nội dung được thực hiện hoàn chỉnh, đạt được mục tiêu đề ra. Kết luận rõ ràng.

- **Nhược điểm:**

+ **Về mặt nội dung:**

Phần mở đầu nên bổ sung thêm các phương pháp nghiên cứu, đánh giá tương ứng với từng nội dung.

Hơi đáng tiếc vì luận án không nêu nội dung định lượng thành phần hoạt chất của xà lách xoăn để đối sánh sản phẩm thông thường với xà lách xoăn được kích thích sinh trưởng bằng dung dịch hoạt hóa plasmon.

+ **Về mặt hình thức:** Cần rà soát chỉnh sửa một số lỗi chính tả, lỗi trình bày các hình ảnh, công thức. Các hình còn phần chú thích ghi tiếng Anh nên chuyển sang tiếng Việt.

7. Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu hội nghị khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình đã công bố

Luận án có 03 công bố khoa học trong đó có 1 công bố quốc tế, các công bố còn lại đều được đăng trên các tạp chí uy tín trong nước.

8. Kết luận chung cần khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành. Bản tóm tắt phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án hay không; luận án có thể đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận học vị tiến sĩ hay không.

- Luận án đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành Hóa vô cơ
- Luận án có thể đưa ra bảo vệ trước Hội đồng cấp Học viện để nhận học vị Tiến sĩ chuyên ngành Hóa vô cơ

Người nhận xét



TS. Cao Văn Dư

Hà Nội, ngày 01 tháng 08 năm 2023

**BIÊN BẢN CỦA
HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN**

Họ và tên NCS: **Thân Quốc An Hạ**

Tên đề tài luận án: “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.)”

Chuyên ngành: Hóa vô cơ

Mã số: 9 44 01 13

Người hướng dẫn: 1. PGS. TS. Phạm Hữu Thiện - Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

2. GS.TS. Ahmed KHACEF - Trường Đại học Université d'Orléans (France)

Đại biểu tham dự:

Phần I:

1. Đại diện cơ sở đào tạo tuyên bố lý do, đọc quyết định của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện và đề nghị Chủ tịch Hội đồng điều khiển phiên họp.
2. Chủ tịch Hội đồng công bố danh sách thành viên có mặt, thông qua chương trình buổi bảo vệ, đề nghị Thư ký thông báo các điều kiện chuẩn bị cho buổi bảo vệ và đọc lý lịch khoa học của NCS.
3. Thư ký thông báo các điều kiện cho buổi bảo vệ.
4. Các thành viên hội đồng và những người tham dự nêu câu hỏi hoặc ý kiến thắc mắc (nếu có) về lý lịch khoa học và quá trình đào tạo của nghiên cứu sinh.
5. Nghiên cứu sinh trình bày nội dung luận án trong thời gian không quá 30 phút. Không được đọc bản tóm tắt luận án hoặc văn bản chuẩn bị trước.
6. Các phản biện đọc nhận xét và đặt câu hỏi.
7. Tác giả luận án trả lời các câu hỏi của phản biện.
8. Các thành viên khác trong Hội đồng đưa ra ý kiến nhận xét và đặt câu hỏi.
9. Những người tham dự có thể đặt câu hỏi để kiểm tra kiến thức và trình độ nghiên cứu khoa học của nghiên cứu sinh.
10. Tác giả luận án trả lời các câu hỏi nêu ra.
11. Đại diện tập thể hướng dẫn phát biểu ý kiến bằng văn bản.

Phần II: Hội đồng họp riêng để bầu ban kiểm phiếu, bỏ phiếu kín và thảo luận thông qua quyết nghị của Hội đồng



1. Ban kiểm phiếu gồm 3 người (01 trưởng ban và 02 ủy viên). Chủ tịch Hội đồng không tham gia ban kiểm phiếu.
2. Sau khi đánh giá tán thành luận án, người bỏ phiếu có thể xem xét đánh giá luận án đạt loại xuất sắc hay không.

3. Quyết nghị của Hội đồng:

- Kết quả bỏ phiếu đánh giá luận án của Hội đồng

Số phiếu tán thành là 07/07 phiếu

- Những kết luận khoa học cơ bản, những điểm mới, 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.

- Cơ sở khoa học, độ tin cậy của những luận điểm và những kết luận nêu trong luận án

Luận án được trình bày với số liệu, kết quả rõ ràng; có biện luận, giải thích kết quả khoa học; trích dẫn tài liệu tham khảo chính xác, thuyết phục. Luận án sử dụng các phương pháp và thiết bị hiện đại để xây dựng hệ phát plasma, và để khảo sát các đặc trưng hoá lý, khảo sát các thông số cũng như kết hợp dung dịch hoạt hóa plasma được tạo ra với các hàm lượng hydrogen peroxide và khoáng N, P, K khác nhau. Các phương pháp có độ tin cậy cao, sử dụng và phát triển dựa trên các nghiên cứu trước đây.

Từ kết quả nghiên cứu của luận án, tác giả và nhóm nghiên cứu đã công bố thành công 03 bài báo đăng trên các tạp chí khoa học có uy tín quốc tế, trong nước trong cộng đồng khoa học và có nội dung công bố phù hợp, có liên quan đến hướng nghiên cứu của luận án của tác giả. Các bài báo khoa học của tác giả được phản biện chặt chẽ thể hiện ở thời gian nộp bài (Received) và thời gian công bố (Published).

- Ý nghĩa về lý luận, thực tiễn và những đề nghị sử dụng các kết quả nghiên cứu của luận án

Các kết quả nghiên cứu đề tài không trùng lặp với kết quả công trình nghiên cứu được công bố trong và ngoài nước. Kết quả nghiên cứu đã công bố trên 03 tạp chí quốc tế và hội nghị chuyên ngành uy tín.

Ý nghĩa thực tiễn:

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 thương mại 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.

- Những thiếu sót về nội dung và hình thức của luận án

Còn nhiều lỗi đánh máy.

Rà soát lỗi ở các trang 35, 36, 44 (thứ tự hình)..., trang 58 lỗi dấu thập phân...

Tác giả kiểm tra và chỉnh sửa các lỗi font chữ, lỗi chính tả về tên chất hoá học, tên viết tắt, tên đơn vị trong bài viết và biểu đồ. Đồng thời, tác giả thống nhất cách viết số thập phân sử dụng dấu “,”. Theo quy ước quốc tế, tác giả chỉnh sửa đơn vị nhiệt độ là °C, không phải °C.

Chỉnh sửa, bổ sung theo các góp ý của Hội đồng;

- Mức độ đáp ứng các yêu cầu của luận án:

Luận án đáp ứng đầy đủ các yêu cầu của một luận án Tiến sĩ chuyên ngành Hóa vô cơ.

Bản tóm tắt của luận án trung thành với nội dung cơ bản của luận án.

- Những điểm cần bổ sung, sửa chữa (nếu có) trước khi nộp luận án cho Thư viện Quốc gia Việt Nam

Còn nhiều lỗi đánh máy.

Rà soát lỗi ở các trang 35, 36, 44 (thứ tự hình)..., trang 58 lỗi dấu thập phân...

Tác giả kiểm tra và chỉnh sửa các lỗi font chữ, lỗi chính tả về tên chất hoá học, tên viết tắt, tên đơn vị trong bài viết và biểu đồ. Đồng thời, tác giả thống nhất cách viết số thập phân sử dụng dấu “,”. Theo quy ước quốc tế, tác giả chỉnh sửa đơn vị nhiệt độ là °C, không phải °C.

Chỉnh sửa, bổ sung theo các góp ý của Hội đồng;

- Kiến nghị của Hội đồng về việc công nhận trình độ và cấp bằng tiến sĩ cho nghiên cứu sinh

Nghiên cứu sinh Thân Quốc An Hạ xứng đáng nhận học vị Tiến sĩ chuyên ngành Hóa vô cơ

V
A

V
I
H
C

: N

/

4. Nghị quyết của Hội đồng được các thành viên Hội đồng nhất trí thông qua bằng biểu quyết công khai

Phần III:

1. Trưởng ban kiểm phiếu công bố kết quả đánh giá luận án

Hội đồng đã thành lập ban kiểm phiếu gồm 3 thành viên: PGS. TS. Bạch Long Giang (Chủ tịch), PGS. TS. Phạm Trung Kiên (ủy viên), TS. Lê Thị Phương (ủy viên). Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện nhất trí đề nghị công nhận học vị Tiến sĩ chuyên ngành Hóa vô cơ cho nghiên cứu sinh Thân Quốc An Hạ, với số phiếu bầu tán thành là 07/07 phiếu

2. Chủ tịch Hội đồng đọc quyết nghị của Hội đồng
3. Chủ tịch Hội đồng tuyên bố Hội đồng đã hoàn thành nhiệm vụ và trao lại quyền điều khiển cho Cơ sở đào tạo

THƯ KÝ



TS. LÊ THỊ PHƯƠNG

CHỦ TỊCH



GS.TS. NGUYỄN CỬU KHOA

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO
KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC



Nguyễn Thị Trung



Hà Nội, ngày 01 tháng 08 năm 2023

NGHỊ QUYẾT CỦA HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Tên nghiên cứu sinh: **Thân Quốc An Hạ**

Đề tài: “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.*)”

Chuyên ngành: Hóa vô cơ Mã số: 9 44 01 13

Người hướng dẫn 1: PGS. TS. Phạm Hữu Thiện - Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn 2: GS.TS. Ahmed KHACEF - Trường Đại học Université d'Orléans (France)

Quyết định thành lập Hội đồng số: 722/QĐ-HVKHCN ngày 09/6/2023 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ.

Thời gian họp: 09 giờ 30 phút, thứ Ba ngày 01/8/2023

Địa điểm: Phòng họp tầng 1 - Viện Sinh Thái học Miền Nam - Viện Khoa học vật liệu ứng dụng, số 1D đường TL29, phường Thanh Lộc, Quận 12, TP. Hồ Chí Minh.

Số thành viên Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện có mặt: 7/7

Sau khi nghe nghiên cứu sinh Thân Quốc An Hạ trình bày nội dung luận án trong thời gian 30 phút, Hội đồng đã nghe các phản biện phát biểu nhận xét luận án. Hội đồng đã tiến hành thảo luận chung tại Hội trường, sau đó Hội đồng đã họp riêng và nhất trí quyết nghị như sau:

- Kết quả hồ phiếu đánh giá luận án của Hội đồng:** số phiếu tán thành là 07/07, trong đó số phiếu xuất sắc là 0 phiếu.
- Những kết luận khoa học cơ bản, những điểm mới, đóng góp mới của luận án**

- Những điểm mới, đóng góp mới của nghiên cứu**

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.

3. Cơ sở khoa học, độ tin cậy của những luận điểm và những kết luận nêu trong luận án

+ Luận án được trình bày với số liệu, kết quả rõ ràng; có biện luận, giải thích kết quả khoa học; trích dẫn tài liệu tham khảo chính xác, thuyết phục. Luận án sử dụng các phương pháp và thiết bị hiện đại để xây dựng hệ phát plasma, và để khảo sát các đặc trưng hoá lí, khảo sát các thông số cũng như kết hợp dung dịch hoạt hóa plasma được tạo ra với các hàm lượng hydrogen peroxide và khoáng N, P, K khác nhau. Các phương pháp có độ tin cậy cao, sử dụng và phát triển dựa trên các nghiên cứu trước đây.

Từ kết quả nghiên cứu của luận án, tác giả và nhóm nghiên cứu đã công bố thành công 03 bài báo đăng trên các tạp chí khoa học có uy tín quốc tế, trong nước trong cộng đồng khoa học và có nội dung công bố phù hợp, có liên quan đến hướng nghiên cứu của luận án của tác giả. Các bài báo khoa học của tác giả được phân biệt chặt chẽ thể hiện ở thời gian nộp bài (Received) và thời gian công bố (Published).

4. Những ưu điểm của luận án (ý nghĩa về lý luận, thực tiễn và những đề nghị sử dụng các kết quả nghiên cứu của luận án)

+ Các kết quả nghiên cứu đề tài không trùng lặp với kết quả công trình nghiên cứu được công bố trong và ngoài nước. Kết quả nghiên cứu đã công bố trên 03 tạp chí quốc tế và hội nghị chuyên ngành uy tín.

+ Ý nghĩa thực tiễn:

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.

- ✓ Còn nhiều lỗi đánh máy.
- ✓ Rà soát lỗi ở các trang 35, 36, 44 (thứ tự hình)..., trang 58 lỗi dấu thập phân....
- ✓ Tác giả kiểm tra và chỉnh sửa các lỗi font chữ, lỗi chính tả về tên chất hoá học, tên viết tắt, tên đơn vị trong bài viết và biểu đồ. Đồng thời, tác giả thống nhất cách viết số thập phân sử dụng dấu “.”. Theo quy ước quốc tế, tác giả chỉnh sửa đơn vị nhiệt độ là °C, không phải 0C.
- ✓ Chỉnh sửa, bổ sung theo các góp ý của Hội đồng;

Kết luận:

- *Mức độ đáp ứng các yêu cầu của luận án* : Luận án đáp ứng đầy đủ các yêu cầu của một luận án Tiến sĩ chuyên ngành Hóa vô cơ.
- *Bản tóm tắt của luận án trung thành với nội dung cơ bản của luận án.*
- *Những điểm cần bổ sung, sửa chữa (nếu có) trước khi nộp luận án cho Thư viện Quốc gia Việt Nam:*
 - Cần rà soát, chỉnh sửa các lỗi đánh máy.
 - Rà soát lỗi ở các trang 35, 36, 44 (thứ tự hình)..., trang 58 lỗi dấu thập phân....
 - Tác giả kiểm tra và chỉnh sửa các lỗi font chữ, lỗi chính tả về tên chất hoá học, tên viết tắt, tên đơn vị trong bài viết và biểu đồ. Đồng thời, tác giả thống nhất cách viết số thập phân sử dụng dấu “.”. Theo quy ước quốc tế, tác giả chỉnh sửa đơn vị nhiệt độ là °C, không phải 0C.
 - Chỉnh sửa, bổ sung theo các góp ý của Hội đồng;
- *Kiến nghị của Hội đồng về việc công nhận trình độ và cấp bằng tiến sĩ cho nghiên cứu sinh* : Nghiên cứu sinh Thân Quốc An Hạ xứng đáng nhận học vị Tiến sĩ chuyên ngành Hóa vô cơ

Số thành viên Hội đồng nhất trí thông qua bằng biểu quyết công khai : 07/07

Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện nhất trí đề nghị công nhận học vị Tiến sĩ chuyên ngành Hóa vô cơ cho nghiên cứu sinh Thân Quốc An Hạ.

THƯ KÝ HỘI ĐỒNG



TS. Lê Thị Phương

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG



GS.TS. Nguyễn Cửu Khoa



XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO



**KI. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC**



BẢN GIẢI TRÌNH CHỈNH SỬA, BỔ SUNG LUẬN ÁN TIÊN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Ngày 01 tháng 08 năm 2023, Học viện Khoa học và Công nghệ đã tổ chức đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện cho nghiên cứu sinh Thân Quốc An Hạ theo Quyết định số 722/QĐ-HVKHCN ngày 09 tháng 06 năm 2023 của Giám đốc Học viện.

Đề tài: 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.)

Ngành: Hóa vô cơ, Mã số: 9 44 01 13

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. Phạm Hữu Thiện – Viện Khoa học Vật liệu Ứng dụng;
2. GS.TS. Ahmed KHACEF – Trường Đại học Université d'Orléans

Theo Biên bản của Hội đồng, NCS phải bổ sung và chỉnh sửa luận án các điểm sau đây:

STT	Nội dung đề nghị chỉnh sửa, bổ sung	Nội dung đã được chỉnh sửa, bổ sung (Ghi rõ số trang/chương/mục... đã được chỉnh sửa)
1	Còn nhiều lỗi đánh máy	Đã rà soát, chỉnh sửa lỗi đánh máy trong toàn luận án.
2	Rà soát lỗi ở các trang 35, 36, 44 (thứ tự hình)..., trang 58 lỗi dấu thập phân,...	Trang 35: Đã sắp xếp đúng số thứ tự hình ảnh. Trang 36, 44, 58: Đã hiệu chỉnh các lỗi dấu thập phân.
3	Tác giả kiểm tra và chỉnh sửa các lỗi font chữ, lỗi chính tả về tên chất hoá học, tên viết tắt, tên đơn vị trong bài viết và biểu đồ. Đồng thời, tác giả thống nhất cách viết số thập phân sử dụng dấu “,”. Theo quy ước quốc tế, tác giả chỉnh sửa đơn vị nhiệt độ là °C, không phải ˚C.	Đã rà soát, chỉnh sửa lỗi đánh máy, lỗi font chữ, lỗi chính tả về tên chất hoá học, tên viết tắt, tên đơn vị trong bài viết và biểu đồ trong toàn luận án. Đã hiệu chỉnh các lỗi dấu thập phân, chỉnh sửa đơn vị nhiệt độ là °C.
4	Trang 32. Phần 1.4.3. tác giả bổ sung hình ảnh	Đã bổ sung hình ảnh biểu liên

Lưu ý: Các chữ ký xác nhận cần gắn với nội dung trên cùng một trang giấy. Học viện sẽ không xác nhận nếu phần chữ ký tách rời với nội dung



	hàm lượng này.	
15	Trang 67-68, Hình 3.25 đến 3.27, tác giả chú thích trực tiếp các hàm lượng trực tiếp trên hình ảnh tương ứng.	Đã chú thích trực tiếp vào hình theo yêu cầu tại các trang 67, 68.
16	Trang 68, Hình 3.28, tác giả bổ sung scale bar trên hình, chỉnh sửa chú thích thành (A) 0 giờ, (B) 8 giờ và (C) 24 giờ và ghi chú hình ảnh tương đương. Phần giải thích bằng chữ “ Hình ảnh bên dưới... hàm lượng 50 ppm” trái ngược với chú thích hình (80 ppm P). Tác giả kiểm tra và điều chỉnh.	Đã kiểm tra, bổ sung và điều chỉnh yêu cầu tại trang 68.
17	Trang 70: Hình 3.23 là hình ảnh kháng nấm của các hàm lượng H ₂ O ₂ , không thể hiện tỉ lệ này mầm trong trường hợp bổ sung P và K. Tác giả nên kiểm tra và điều chỉnh.	Đã điều chỉnh lỗi đánh máy, bổ sung và điều chỉnh tại trang 70.
18	Hình 3.28 thể hiện sự biến đổi của hạt theo hàm lượng P 80 ppm. Tuy nhiên, trong phần trường hợp bổ sung K trang 70 đề cập rằng tỉ lệ này mầm có xu hướng tăng dần như N và P. Tác giả nên bổ sung dữ liệu/ hình ảnh minh họa kết luận này?	Đã bổ sung bổ sung tại trang 70 đề cập rằng tỉ lệ này mầm có xu hướng tăng dần như N và P trong phụ lục đính kèm.
19	Trang 72 – 74 (Hình 3.31, 3.32 và 3.33) và trang 92 (Hình 3.51, 3.52 và 3.53): Số liệu trên thước kẻ khá mờ. Tác giả thay bằng scale bar với số và đơn vị rõ hơn. Đồng thời, tác giả kiểm tra và chỉnh sửa nội dung trong bài viết tương ứng với số thứ tự hình ảnh. Đồng thời, tác giả ghi rõ Ctrl và PNO, PP0 và PK0 khác nhau như thế nào (các hình ở trang 92).	Đã kiểm tra và chỉnh sửa nội dung trong bài viết tương ứng với số thứ tự hình ảnh tại các trang. Các khác biệt tại các mẫu đã được nhận xét tại trang 91, 92.
20	Trang 81, Hình 3.42, tác giả chú thích trực tiếp các hàm lượng trực tiếp trên hình ảnh tương ứng Trang 83, Hình 3.43 và Trang 85 Hình 3.45: Tác giả nên bổ sung các ký hiệu vào phần chú thích biểu đồ hợp lý.	Đã chú thích trực tiếp theo yêu cầu tại các trang 81, 83.
21	Trang 95 Các kết luận về mức độ tăng giảm so với đối chứng, “tăng nhẹ”, “giảm nhẹ”, “thay đổi nhẹ” có được xác nhận bằng giá trị p value được nhắc đến trong phần 2.9 không? Nếu có, tác giả bổ sung chi tiết này vào cuối mỗi kết luận để đảm bảo độ tin cậy của các kết luận. Đồng thời chỉnh sửa các số thập phân.	Đã hiệu chỉnh theo yêu cầu
22	Phần 3.5.4.1. thay tên đầy đủ “plasma lạnh” bằng tên viết tắt PAW để thống nhất với các phần trước	Đã thay thế plasma lạnh thành PAW trong toàn bộ nội dung 3.5.4 trang 100.
23	Trang 96, Hình 3.56, tương tự, tác giả giải thích ý nghĩa mũi tên màu xanh trong hình. Trang 97	Mũi tên xanh để chú thích rõ hơn cột dữ liệu tương ứng. Tác giả đã

CO
IEN
OC V
NGH
W

	trong phần chú thích của các hình 3.57 đến 3.59 tác giả nêu rõ PAW đã sử dụng trong thí nghiệm này là PAW-15, tương ứng với phần viết ở trang 96.	loại bỏ mũi tên này. Đã nêu rõ PAW-15 trong trang 96.
24	Tác giả bổ sung kết luận về hiệu quả kháng khuẩn và kháng nấm của PAW-15 nói riêng và PAW nói chung đã thu được từ nghiên cứu này.	Đã bổ sung tại trang 106

Nghiên cứu sinh chân thành cảm ơn Quý thầy, cô trong Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện đã góp ý và tạo cơ hội cho NCS hoàn thiện luận án của mình.

Xin trân trọng cảm ơn./.

Hà Nội, ngày 08 tháng 08 năm 2023

TẬP THỂ HƯỚNG DẪN

(Trường hợp có 02 người hướng dẫn xin chữ ký cả 02 người, ký và ghi rõ họ tên)

NGHIÊN CỨU SINH

Thần Quốc An + Ha

PGS.TS. Phạm Hữu Thiện GS.TS. Ahmed KHACEF

XÁC NHẬN CỦA HỌC VIỆN
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

**KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC**



Nguyễn Thị Trung

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

Nguyễn Cửu Kiên

